

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA
CAMPUS TECNOLÓGICO LOCAL SAN CARLOS**

**EVALUACIÓN DE LA FERTILIDAD A PARTIR DE LA CALIDAD
SEMINAL DE VERRACOS (*Sus scrofa* L.) EN GRANJA LOS
SAGITARIOS, RÍO CUARTO, ALAJUELA**

Trabajo Final de Graduación presentado a la Escuela de Agronomía
como requisito parcial para optar al grado de Licenciatura en Ingeniería en
Agronomía

ÁLVARO VINICIO BARQUERO RAMÍREZ

SANTA CLARA, 2020



Carrera de Ingeniería en Agronomía
Campus Tecnológico Local
San Carlos
2019 - 2023

EVALUACIÓN DE LA FERTILIDAD A PARTIR DE LA CALIDAD SEMINAL DE VERRACOS (*Sus scrofa* L.) EN GRANJA LOS SAGITARIOS, RÍO CUARTO, ALAJUELA

ÁLVARO VINICIO BARQUERO RAMÍREZ

Aprobado por los miembros del Tribunal Evaluador:

Ing. Agr. Anthony Valverde Abarca, Ph.D.

Firmado digitalmente por
ANTHONY VALVERDE ABARCA
(FIRMA)
Motivo: Estoy aprobando este documento
Ubicación: San Carlos, Costa Rica
Fecha: 2020.08.05 14:51:21 -06'00'



Asesor principal

Ing. Agr. Siany Ramírez Gutiérrez, MGA.

SIANY PATRICIA
RAMIREZ GUTIERREZ
(FIRMA)
Firmado digitalmente por SIANY
PATRICIA RAMIREZ GUTIERREZ
(FIRMA)
Fecha: 2020.08.05 15:22:30 -06'00'

Jurado

Ing. Agr. Sergio Salazar Villanea, Ph.D.

SERGIO SALAZAR
VILLANEZA (FIRMA)
Digitally signed by SERGIO
SALAZAR VILLANEZA (FIRMA)
Date: 2020.08.05 15:33:34
-06'00'

Jurado

Ing. Agr. Zulay Castro Jiménez, MGA.

ZULAY CASTRO
JIMENEZ (FIRMA)
Firmado digitalmente por
ZULAY CASTRO JIMENEZ
(FIRMA)
Fecha: 2020.09.23 17:28:22
-06'00'

**Coordinadora
Trabajos Finales de Graduación**

Ing. Agr. Milton Villarreal Castro, Ph.D.

 Firmado digitalmente por MILTON
VILLARREAL CASTRO (FIRMA)
Motivo: He revisado este documento
Fecha: 2020.10.02 06:36:52 -06'00'

**Director
Escuela de Agronomía**

2020

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Anthony Valverde Abarca, por su dedicación y tiempo para realizar la presente investigación; además del conocimiento transmitido y la oportunidad de trabajar con él en este y demás trabajos que surgieron durante el periodo de trabajo. También por enseñarme el valor de la investigación y motivarme a continuar mis estudios; por último, debo agradecerle por su amistad.

Al Programa de Producción Agropecuario (PPA) por brindarme transporte para la recolección de las muestras.

A la Granja Los Sagitarios por proporcionar las muestras seminales evaluadas a lo largo del estudio.

A mis padres Álvaro Barquero Ávila y Nuria Ramírez Arce por el gran apoyo en todo momento, tanto en mi preparación académica como en mi vida en general.

A mi hermana Tatiana Barquero Ramírez por apoyarme e impulsarme a ser mejor estudiante y persona; además de un modelo a seguir y darme la dicha de ser tío de Santiago.

A mi amiga Rebeca Rodríguez Chavarría por sus consejos a lo largo de todos los años de amistad y en especial para salir adelante con los proyectos que me propuse. También por motivarme en momentos de debilidad.

A mis compañeros y amigos que me apoyaron durante mis años de estudio universitario, en especial a Gerald Sánchez Díaz, Antoine Nieuwenhuyse Gordon, Valery Jiménez Benavides, Erika Campos Hernández, Ángel Corea Sánchez e Ignacio Araya Zúñiga; y en general a las generaciones 2016 y 2015.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	i
ÍNDICE DE CONTENIDO	ii
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	ix
PUBLICACIONES CIENTÍFICAS DERIVADAS DE LA PRESENTE TESIS	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Justificación	2
1.2. Propósito	3
1.3. Objetivo general	3
1.4. Objetivos específicos	3
1.5. Hipótesis	4
2. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1. Hato porcino en Costa Rica	5
2.2. Reproducción en cerdos	5
2.3. Análisis seminales	6
2.3.1. Sistemas CASA	7
2.3.2. Movilidad en semen porcino	9
2.3.3. Morfometría del semen porcino	11
2.4. Fertilidad en cerdas	14
3. MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1. Ubicación del sistema productivo	16
3.2. Material experimental	16
3.3. Extracción seminal y traslado	16
3.4. Análisis espermático	17
3.4.1. Movilidad	17
	ii

3.4.2.	Morfometría	18
3.5.	Parámetros reproductivos	19
3.6.	Análisis estadístico	19
3.6.1.	Análisis multivariado	19
3.6.2.	Estadística Bayesiana	22
4.	RESULTADOS	24
4.1.	Cinética espermática	24
4.1.1.	Análisis estructural de las subpoblaciones de eyaculados	24
4.1.2.	Tasa de fertilidad por línea genética de cerdas y verracos	27
4.1.3.	Relación entre parámetros de cinética y fertilidad	29
4.1.4.	Análisis de relevancia Bayesiana	29
4.2.	Morfometría espermática	34
4.2.1.	Parámetros de fertilidad	36
4.2.2.	Estructura subpoblacional	37
4.2.3.	Distribución de las subpoblaciones espermáticas	39
4.2.4.	Análisis Bayesiano de relevancia morfométrica	40
5.	DISCUSIÓN	44
5.1.	Análisis de cinética espermática	44
5.2.	Análisis morfométrico	48
6.	CONCLUSIONES	53
7.	BIBLIOGRAFÍA	54
8.	ANEXOS	70
	ANEXO 1	71
	Assessment of fertility traits related with kinematics subpopulations of boar spermatozoa ¹	71
	ANEXO 2	120
	Relevance of head morphometry sub-populations of boar spermatozoa and fertility ¹	120

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1.	Sistemas CASA comerciales disponibles para configuración específica de semen porcino.	8
2.	Definición de los parámetros de movilidad espermática.	10
3.	Parámetros de cinética espermática (medias+EE) en espermatozoides de verracos Pietrain, medidos con diferentes alturas de cámara de recuento. Valencia, España. 2017.	11
4.	Efecto racial en dimensiones de cabeza de espermatozoides (medias \pm DE).	13
5.	Estudios selectos detallando una correlación positiva entre parámetros de cinética de espermatozoides evaluados por CASA y fertilidad en campo luego de inseminación artificial.	15
6.	Variables de cinética (media \pm DE) de las cuatro subpoblaciones (SPs) de eyaculados.	25
7.	Vectores propios de los factores principales (PFs)* para variables de cinética espermática de verraco.	26
8.	Tasa de fertilidad (media \pm DE) dada por línea genética de verracos (porcentaje de variación con respecto a Pietrain en paréntesis).	29
9.	Variables de fertilidad y distribución marginal posterior estimada de las diferencias entre líneas maternas.	30
10.	Variables de cinética y de fertilidad de los espermatozoides de verraco y distribución marginal posterior estimada de las diferencias entre las subpoblaciones de eyaculados.	31

11.	Variables de morfometría (media \pm DE) del tamaño y forma de la cabeza del espermatozoide de verraco en diferentes cruces de machos y dosis de IA usadas en cerdas de cuatro grupos raciales.	35
12.	Variables de fertilidad (media \pm DE) de tamaño de camada y mortalidad embrionaria de lechones provenientes de semen de dos líneas genéticas de verracos y utilizado sobre cuatro líneas genéticas de cerdas.	36
13.	Morfometría de la forma y tamaño de la cabeza y variables de fertilidad (media \pm DE) de las cuatro subpoblaciones (SPs) definidas por muestras seminales de verracos.	38
14.	Porcentaje de espermatozoides de semen de verraco de dos líneas genéticas en cada subpoblación morfométrica caracterizada por dosis de IA usadas en cerdas.	39
15.	Porcentaje de espermatozoides en cada subpoblación morfométrica de semen de verracos de dos líneas genéticas.	40
16.	Variables de fertilidad y morfometría y distribución marginal posterior estimada de diferencias entre subpoblaciones.	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1.	Distribución porcentual del ganado porcino de reproducción, según sexo, 2017.	5
2.	Representación del dispositivo de inseminación artificial colocado sobre el útero de la cerda.	6
3.	Elementos básicos de un equipo CASA.	8
4.	Reconstrucción de la trayectoria del espermatozoide según parámetros cinemáticos tomados por el sistema CASA.	9
5.	Variables morfométricas de tamaño y forma de la cabeza del espermatozoide medidas con el sistema CASA-Morph.	12
6.	Patrón de factor rotado de vectores propios de factores principales (PF) para variables cinéticas de espermatozoides de verraco.	26
7.	Efecto de la línea genética maternal sobre los valores de lechones nacidos vivos, lechones nacidos muertos y peso de la camada al nacimiento (kg).	28

RESUMEN

La fertilidad en las cerdas es multifactorial; sin embargo, la calidad seminal es uno de los factores que pueden condicionar los resultados de fertilidad en la industria porcina. El eyaculado se constituye en una población heterogénea de células y puede haber variación entre los eyaculados de un mismo verraco, así como dentro de un mismo eyaculado. El objetivo del presente trabajo fue analizar la fertilidad en hembras inseminadas artificialmente a partir de la movilidad y morfometría seminal de verracos en Agropecuaria Los Sagitarios, Río Cuarto. Se recogieron muestras de semen de 11 verracos sexualmente maduros (40 eyaculados) de dos líneas terminales comerciales. Las muestras se analizaron mediante el sistema *Computer-Assisted Semen Analysis* (CASA) ISAS®v1. Se evaluaron ocho variables cinéticas relacionadas con la velocidad espermática, índices de linealidad de la progresión celular y de ondulación-oscilación espermática. En el análisis de la morfometría se evaluaron cuatro variables relacionadas con el tamaño de la cabeza como longitud, anchura, área y perímetro y cuatro variables asociadas con la forma de la cabeza. Solo se utilizaron eyaculados con >70 % de movilidad total y <15 % de morfoanomalías para la IA. En el análisis de la cinética, las subpoblaciones de eyaculados se caracterizaron mediante procedimientos multivariados, como el análisis de los factores principales (PF) y los métodos de agrupamiento (modelo *k-medias*). Se identificaron cuatro subpoblaciones de eyaculados diferentes a partir de dos PF que implicaban progresividad y velocidad. A pesar de que no hubo diferencias ($P > 0,05$) entre líneas maternas y subpoblaciones, el análisis Bayesiano confirmó que las diferencias entre las líneas maternas fueron relevantes en las variables de fertilidad. En el análisis de morfometría las subpoblaciones espermáticas se caracterizaron también mediante procedimientos multivariados, como el análisis de componentes principales (PC) y métodos de agrupamiento (modelo de *k-medias*). Se identificaron cuatro subpoblaciones de espermatozoides diferentes de cinco PC que involucraban la forma de la cabeza, el tamaño de la camada, el tamaño de la cabeza, la uniformidad de la cabeza del espermatozoide y la mortalidad de los embriones. Las proporciones

de las diferentes subpoblaciones espermáticas variaron con el animal y en las dos líneas paternas. Aunque se encontraron diferencias ($P < 0,05$) entre líneas paternas y subpoblaciones, el análisis Bayesiano confirmó que las diferencias entre líneas paternas no fueron relevantes en las variables morfométricas del tamaño de la cabeza ni para el tamaño de la camada. La relevancia biológica y económica de las subpoblaciones espermáticas dentro de los eyaculados debe continuar siendo objeto de estudio.

ABSTRACT

Fertility in sows is multifactorial; however, semen quality is one of the factors that can condition fertility results in the swine industry. The ejaculate is made up of a heterogeneous population of cells and there may be variation between ejaculates from the same boar, as well as within the same ejaculate. The aim of the present study was to analyze the fertility in artificially inseminated females from the motility and seminal morphometry of boars at Agropecuaria Los Sagitarios, Río Cuarto. Semen samples were collected from 11 sexually mature boars (40 ejaculates) from two commercial terminal lines. Samples were analyzed using the Computer-Assisted Semen Analysis (CASA) ISAS[®]v1 system. Eight kinetic parameters of velocity of the movement, relations of the velocity movements and spermatoc oscillation were analyzed. In the morphometry analysis, four variables related to the head size, such as length, width, area and perimeter, and four variables associated with the head shape. Only ejaculates with >70% total motility and <15% of abnormal sperm were used for AI. In the kinetic analysis, the ejaculate subpopulations were characterized using multivariate procedures such as principal factors (PF) analysis and clustering methods (*k-means* model). Four different ejaculate subpopulations were identified from two PF that involved progressiveness and velocity. Despite there being no statistical difference ($P > 0,05$) between female lines and subpopulations, the Bayesian analysis confirmed that the differences between female lines are relevant in fertility variables. In the morphometric analysis, the sperm subpopulations were also characterized using multivariate procedures such as principal components (PC) analysis and clustering methods (*k-means* model). Four different sperm subpopulations were identified from five PC that involved head shape, litter size, head size, sperm head uniformity, and embryo mortality. The proportions of the different sperm subpopulations varied with the animal and in the two male lines. Despite a statistical difference ($P < 0,05$) between male lines and subpopulations, the Bayesian analysis confirmed that differences between male lines are not relevant in the morphometric variables of head size or litter size fertility. The biological and

economic relevance of sperm subpopulations within ejaculates needs continues to be the subject of further studies.

PUBLICACIONES CIENTÍFICAS DERIVADAS DE LA PRESENTE TESIS

Parte de los resultados de esta tesis han sido enviados para su posible publicación a las siguientes revistas:

- **Vinicio Barquero**, Eduardo R.S. Roldan, Carles Soler, Bernardo Vargas-Leiton, Luis Víquez, Anthony Valverde. *Assessment of fertility traits related with kinematics subpopulations of boar spermatozoa*. **Animal Reproduction Science** (Submitted) (Anexo 1).

- **Vinicio Barquero**, Eduardo R.S. Roldan, Carles Soler, Anthony Valverde. *Relevance of head morphometry sub-populations of boar spermatozoa and fertility*. **Theriogenology** (Submitted) (Anexo 2).

1. INTRODUCCIÓN

La industria de producción porcina en el mundo está basada en la inseminación artificial (IA) de las cerdas con semen diluido y preservado a una temperatura cercana a 17 °C (Li *et al.* 2018, Bielas *et al.* 2017, Pipan *et al.* 2017). Se debe tomar en cuenta que el eyaculado está compuesto por una población heterogénea de espermatozoides, los cuales poseen diferencias en su movilidad y características morfométricas, por lo cual se recomienda seleccionar la fracción más rica en espermatozoides; lo cual proporcionaría dosis seminales de mayor calidad y más eficientes en cuanto a los programas de cría (Morrell 2019) esto porque se logra optimizar el número de dosis seminales por verraco¹.

El almacenamiento del semen afecta negativamente su calidad, de manera que la integridad del ADN se ve desfavorecida y la movilidad de los espermatozoides se ve reducida paulatinamente (Bielas *et al.* 2017). El periodo de almacenamiento es un factor de variación importante y este no debe ser superior a siete días porque posterior a este lapso, el acrosoma y la membrana plasmática se deterioran (Bielas *et al.* 2017). Además, al almacenar el semen, los espermatozoides disminuyen el consumo energético, pero mantienen su metabolismo por lo cual consumen las reservas (Li *et al.* 2018). Debido a esto, es de vital importancia realizar un análisis de movilidad y morfometría para evaluar la calidad del semen; lo que conlleva la obtención de una predicción del potencial reproductivo (Parrilla *et al.* 2019).

En 1677 fue la primera vez que se identificaron los espermatozoides por van Leeuwenhoek y desde este punto se dio el desarrollo de la investigación en este campo hasta la actualidad en donde se han desarrollado los sistemas CASA (*Computer-Assisted Semen Analysis*) que permiten el estudio del espermatozoide y sus características por medio de instrumentos que reducen la variabilidad en los datos obtenidos (Amann y Waberski 2014). En cuanto a movilidad espermática, esta depende de los parámetros de cinética celular (Lu *et al.* 2014, Valverde y Madrigal-

¹ Valverde, A. 22 oct. 2019. Rentabilidad en programas de venta de dosis seminales. San Carlos, Alajuela, Costa Rica. ITCR.

Valverde 2018). La funcionalidad básica de esta medición se debe a la captura de fotogramas sucesivos para la construcción de la trayectoria del espermatozoide (Valverde y Madrigal-Valverde 2018). El análisis de la morfometría permite conocer el estado de los espermatozoides en su acrosoma, cabeza y pieza intermedia; esto porque en caso de encontrar anomalías estas se pueden asociar a patologías y fallas en la fisiología del aparato reproductor masculino (Valverde y Madrigal-Valverde 2018).

En el proceso de inseminación artificial (IA) se debe evaluar tanto al macho como a la hembra; debido a esto, se debe analizar el proceso ovulatorio por el hecho de que el estro de la cerda es multifactorial (Amann 1989). Algunos de estos factores de interés son la exposición al macho (Ulguim *et al.* 2018), el número de partos (Knox *et al.* 2017, Quirós-Rojas *et al.* 2018), el estatus social (Hoy *et al.* 2009) y la secreción de hormonas (Seyfang *et al.* 2016, De Rensis y Kirkwood 2016), entre otros.

Los parámetros a tomar en cuenta para evaluar la fertilidad son la cantidad de lechones nacidos vivos y totales (Hoy *et al.* 2009, Broekhuijse *et al.* 2012); la tasa de preñez (Winters *et al.* 2018) y el número de lechones momificados (Broekhuijse *et al.* 2012). En consecuencia, se han encontrado relaciones positivas entre variables de cinética y parámetros de fertilidad (Fair y Romero-Aguirregomez 2019).

1.1. Justificación

El manejo reproductivo porcino se basa en la IA, de manera que para la mejora de los parámetros de productividad y rentabilidad de las granjas es relevante contar con material genético de calidad para la inseminación de las cerdas.

No obstante, en Costa Rica la mayoría de las granjas no realizan evaluaciones objetivas de la calidad espermática a sus verracos en etapa reproductiva y por ende no conocen el material que están utilizando como germoplasma en inseminación artificial. Por otro lado, existen diversos métodos cualitativos para la obtención de una aproximación subjetiva en cuanto a la valoración del semen. Sin embargo, al

disponer de una evaluación cuantitativa y objetiva del semen; con mayor precisión y exactitud; se puede mejorar, el manejo reproductivo de los machos.

Paralelamente a esto, actualmente en Costa Rica algunas granjas registran los parámetros de fertilidad pero no los utilizan en la toma de decisiones y no se ha establecido una relación entre estos y la calidad seminal; sin embargo, se podrían establecer protocolos con el propósito de contribuir en la mejora de la reproducción asistida en la industria porcina nacional basándose en investigaciones a lo interno y relacionarlas con lo que se ha obtenido en países que se encuentran a la vanguardia en esta área de la reproducción animal.

1.2. Propósito

La presente tesis pretende aportar conocimiento en el campo de la reproducción porcina en Costa Rica, esto porque el país no posee ninguna referencia en cuanto a la evaluación de la fertilidad a partir de la movilidad y morfometría seminal de verracos. Este trabajo pretende ser el primero en el país que evalúe la movilidad y morfometría del semen porcino para caracterizar el componente racial en función de la calidad espermática y la fertilidad de las hembras inseminadas con los verracos analizados, lo que puede permitir asociar determinados grupos raciales maternos y paternos en esquemas de cruzamiento terminal que favorezcan mejores resultados de fertilidad en granja.

1.3. Objetivo general

Analizar la fertilidad en hembras inseminadas artificialmente a partir de la movilidad y morfometría seminal de verracos.

1.4. Objetivos específicos

1. Estudiar los parámetros de cinética y movilidad seminal de los eyaculados de diferentes verracos mediante el sistema CASA-Mot.
2. Evaluar la morfometría de la cabeza de espermatozoides de diferentes verracos mediante el sistema CASA-Morph.
3. Determinar el efecto de la calidad seminal de los verracos sobre parámetros reproductivos de cerdas inseminadas artificialmente.

1.5. Hipótesis

La fertilidad de las cerdas se encuentra directamente relacionada con la movilidad y morfometría de la cabeza de los espermatozoides de verraco.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Hato porcino en Costa Rica

Según la encuesta nacional agropecuaria 2017, la actividad porcina cuenta con 334.934 animales de los cuales el 12,0% corresponde a animales destinados a la reproducción (INEC 2019). Se ha determinado una relación que indica que cada verraco debe cubrir en promedio trece hembras, las cuales tienen una media de 1,6 partos por año (INEC 2019). Su distribución por sexo se muestra en la Figura 1.

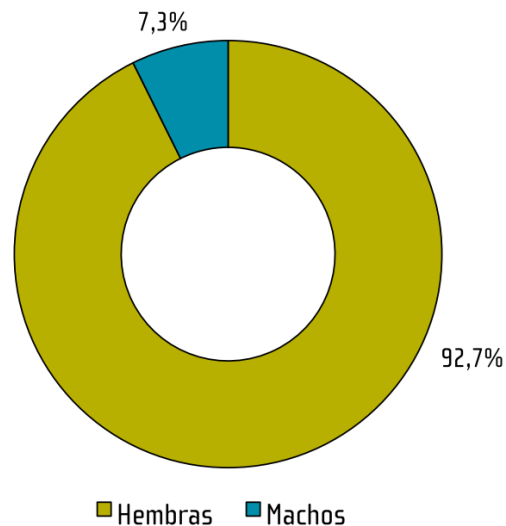


Figura 1. Distribución porcentual del ganado porcino de reproducción, según sexo, 2017.

Fuente: INEC (2019).

2.2. Reproducción en cerdos

La técnica de reproducción asistida predominante para la crianza de cerdos alrededor del mundo es la inseminación artificial (Fair y Romero-Aguirregomez-corta 2019); de manera que se debe realizar un proceso para la extracción seminal, el cual puede proveer semen para cubrir hasta 20 cerdas por eyaculado (Knox 2016).

Para la inseminación artificial de las cerdas se pueden utilizar varios métodos, los cuales pueden ser cervical, post-cervical (Hernández-Caravaca *et al.* 2012), cervical profunda (Llamas-López *et al.* 2019) o intrauterina profunda (Knox 2016). En la Figura 2 se representa la inseminación cervical profunda, en la cual se deposita el semen en el cérvix de la cerda (Llamas-López *et al.* 2019).

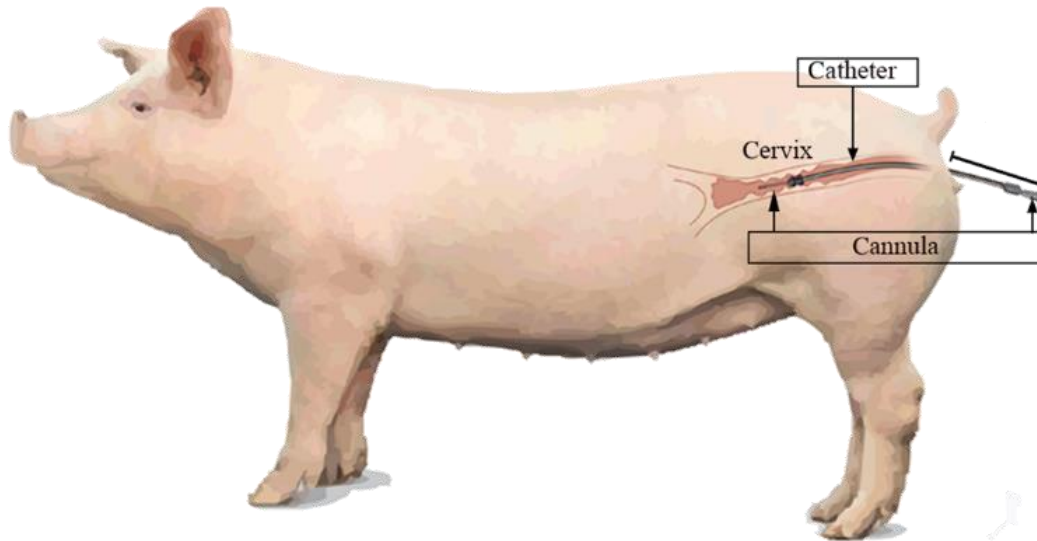


Figura 2. Representación del dispositivo de inseminación artificial colocado sobre el útero de la cerda.

Fuente: Llamas-López *et al.* (2019).

Por otro lado, en relación con el manejo del semen se ha optado por manipularlo en fresco porque la criopreservación causa daños sobre los espermatozoides (Johnson *et al.* 2000). Además, se permite la preservación del material extraído por un periodo de tiempo de hasta siete días (Johnson *et al.* 2000). Asimismo, la inseminación artificial permite analizar el semen antes de ser utilizado y de esta manera conocer la movilidad, las morfoanomalías, la morfometría y su concentración (Amann y Waberski 2014).

2.3. Análisis seminales

Desde el desarrollo de la microscopía, se ha logrado el análisis de los espermatozoides contenidos en una muestra seminal y con ello se ha logrado la caracterización de acuerdo con su morfometría y movilidad (Amann y Waberski 2014). Los análisis seminales se han realizado por medio de microfotografías (Katz y Dott 1975) para la observación del movimiento y con esto realizar la reconstrucción de la trayectoria recorrida por el espermatozoide (Mortimer 2000).

La importancia del estudio seminal se ha basado en la hipótesis que afirma que es posible predecir qué tan bueno será el semen y su capacidad para llegar a fecundar el ovocito a partir de la movilidad principalmente (Mortimer 2000). Sin

embargo, la morfometría ha estado tomando más importancia (Thurston *et al.* 2001) por el hecho de que un espermatozoide deforme puede presentar problemas de movilidad y/o capacidad de fecundación (Chandler *et al.* 1988).

Debido a lo anterior, se han desarrollado diversos avances en este campo dado que los métodos utilizados para evaluar la morfometría generan alteraciones en el tamaño y forma de los espermatozoides (Soler y Cooper 2016). Estos cambios se basan en la introducción de mecanismos que eviten la alteración morfométrica del espermatozoide para una evaluación más cercana a la realidad del semen vivo (Soler y Cooper 2016).

Debido a estos argumentos, el desarrollo de los sistemas de análisis de semen fue potenciado (Bompart *et al.* 2018) hasta los sistemas especializados con los cuales se cuenta hoy en día (Kime *et al.* 2001). Además, este mecanismo para evaluar el semen se ha extendido a lo largo del mundo, en diferentes especies y con diversos software (Valverde y Madrigal-Valverde 2018).

2.3.1. Sistemas CASA

El desarrollo de los sistemas computarizados de análisis seminal (CASA por sus siglas en inglés, *Computer-Assisted Semen Analysis*) ha permitido realizar una evaluación seminal cuantitativa más precisa y con mayor facilidad (Lu *et al.* 2014).

En la Figura 3 se presentan los elementos básicos requeridos para la evaluación seminal, los cuales son una cámara de video para captura de las imágenes, una placa calefactora, un microscopio con el nivel de detalle adecuado para la visualización correcta y una computadora que contenga el software para el análisis de los datos recopilados (Boe-Hansen y Satake 2019).



Figura 3. Elementos básicos de un equipo CASA.

Fuente: Proiser R+D

Los sistemas CASA que se utilizan comúnmente para el análisis seminal en cerdos se describen en el Cuadro 1. Sin embargo, cada uno de los CASA cuenta con diversos módulos, los cuales permiten analizar concentración, movilidad, vitalidad y morfometría (Mortimer y De Jonge 2018). Estos módulos no se incluyen en todos los CASA, sino que se pueden adquirir por separado².

Cuadro 1. Sistemas CASA comerciales disponibles para configuración específica de semen porcino.

Sistema CASA	Funciones
AndroVision®	Movilidad, concentración, morfometría
ISAS® v1	Movilidad, concentración, morfometría, fragmentación del ADN
Plataforma SCA®	Movilidad, concentración, morfometría, vitalidad, leucocitos, fragmentación del ADN
IVOS II™ and CEROS II™	Movilidad, morfometría

Fuente: Modificado de Palacín *et al.* (2013).

Por otro lado, los datos arrojados por los sistemas CASA deben ser depurados; debido a esto se requiere realizar correcciones sobre las imágenes obtenidas y de

² Valverde, A. 15 jun. 2019. Sistemas CASA. San Carlos, Alajuela, Costa Rica. ITCR.

esta forma obtener una mayor fiabilidad (Amann y Waberski 2014). Sin embargo, se debe establecer un protocolo a seguir para lograr una estandarización de los datos al realizar los análisis (Amann y Waberski 2014) lo que permitirá a los diferentes técnicos que apliquen un mismo protocolo, lograr una mayor uniformidad en las evaluaciones (Broekhuijse *et al.* 2012).

2.3.2. Movilidad en semen porcino

En el análisis de la movilidad, el sistema CASA-Mot se basa en la captura sucesiva de la localización de cada cabeza del espermatozoide de manera que crea una trayectoria que determina y describe el movimiento (Lu *et al.* 2014, Valverde y Madrigal-Valverde 2018), tal como se muestra en la Figura 4.

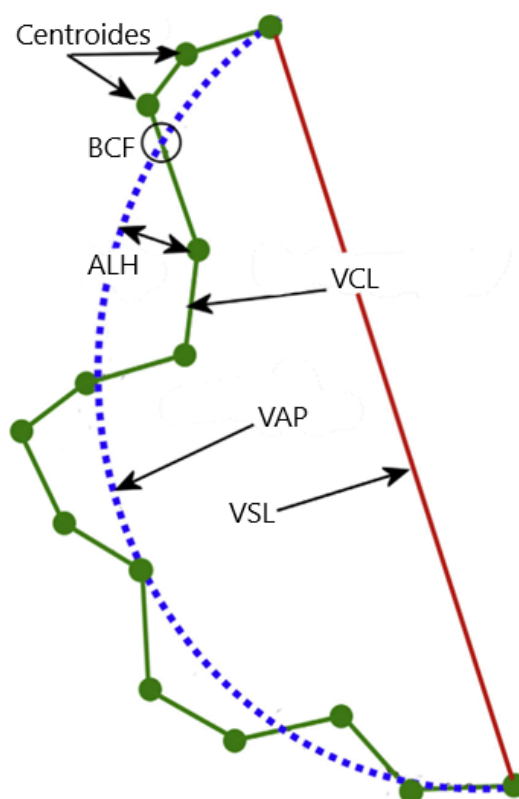


Figura 4. Reconstrucción de la trayectoria del espermatozoide según parámetros cinemáticos tomados por el sistema CASA.

Los centroides representan imágenes sucesivas de la cabeza de un espermatozoide móvil. BCF: frecuencia de entrecruzamiento (Hz); ALH: amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (μm), VCL: velocidad curvilínea ($\mu\text{m/s}$); VSL: velocidad rectilínea ($\mu\text{m/s}$); VAP: velocidad media ($\mu\text{m/s}$).

Fuente: Adaptado de Amann y Waberski (2014).

Las variables de movimiento de los espermatozoides son, velocidad curvilínea (VCL), velocidad rectilínea (VSL), velocidad media (VAP), índice de linealidad (LIN), índice de rectitud (STR), índice de oscilación (WOB), desplazamiento lateral de la cabeza (ALH) y frecuencia de entrecruzamiento (BCF) (Valverde y Madrigal-Valverde 2019); tal y como se describen en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Definición de los parámetros de movilidad espermática.

Parámetro	Definición
Velocidad de movimiento	VCL: velocidad promedio en el tiempo de la cabeza del espermatozoide a lo largo de su trayectoria curvilínea. VSL: velocidad promedio en el tiempo de una cabeza de espermatozoide en línea recta entre su primera y última posición. VAP: velocidad promedio en el tiempo de la cabeza del espermatozoide a lo largo de su trayectoria promedio.
Relaciones de velocidad espermática	LIN: linealidad de la trayectoria curvilínea, es decir VSL/VCL. STR: linealidad de la trayectoria promedio, es decir VSL/VAP. WOB: oscilación entre la trayectoria real y trayectoria promedio, es decir VAP/VCL.
Oscilación espermática	ALH: magnitud del desplazamiento lateral de la cabeza de un espermatozoide sobre la trayectoria promedio. BCF: tasa promedio en la que la trayectoria curvilínea cruza la trayectoria promedio.

Fuente: Modificado de Lu *et al.* (2014).

Respecto de la movilidad total y progresiva, estas se estiman mediante el procesamiento de las trayectorias (Mortimer y Mortimer 2013), sin embargo, estas variables y los parámetros de cinética se pueden ver afectados por la cámara con la cual se analicen las muestras (Valverde y Madrigal-Valverde 2019).

Para el análisis de la movilidad se pueden utilizar diferentes cámaras de recuento, las cuales pueden presentar diferencias debido a la altura de estas o en la carga de la muestra de semen (Valverde y Madrigal-Valverde 2019). En el Cuadro 3 se

evidencian las diferencias entre la cámara ISAS®D4C16 e ISAS®D4C20, las cuales poseen una altura de 16 µm y 20 µm, respectivamente y en ambas se carga el semen por capilaridad (Valverde y Madrigal-Valverde 2019).

Cuadro 3. Parámetros de cinética espermática (medias+EE) en espermatozoides de verracos Petrain, medidos con diferentes alturas de cámara de recuento. Valencia, España. 2017.

Parámetro/Cámara	D4C16	D4C20
Número de células	11 396	16 581
VCL (µm/s)	95,96±0,56 ^a	106,33±0,47 ^b
VSL (µm/s)	31,60±0,18 ^a	38,96±0,15 ^b
VAP (µm/s)	50,06±0,29 ^a	56,34±0,24 ^b
LIN (%)	39,49±0,23 ^a	42,68±0,19 ^b
STR (%)	67,44±0,22 ^a	71,34±0,18 ^b
WOB (%)	55,86±0,18 ^a	56,89±0,15 ^b
ALH (µm)	1,37±0,005 ^a	1,45±0,004 ^b
BCF(Hz)	16,80±0,11 ^a	20,12±0,10 ^b

VCL: velocidad curvilínea; VSL: velocidad rectilínea; VAP: velocidad media; LIN: índice de linealidad; STR: índice de rectitud; WOB: índice de oscilación; ALH: desplazamiento lateral de la cabeza; BCF: frecuencia de entrecruzamiento. ^{a,b} Dentro de fila, valores con diferente superíndice presentan diferencias significativas (P< 0,05).

Fuente: Valverde y Madrigal-Valverde (2018).

Dentro de los factores que pueden intervenir en la precisión de los resultados destacan los fotogramas por segundo (fps, por sus siglas en inglés “*frames per second*”)(Valverde *et al.* 2019), el tiempo de captura de video (Valverde *et al.* 2019), la cámara de recuento utilizada y la concentración espermática (Saravia *et al.* 2007).

2.3.3. Morfometría del semen porcino

El análisis morfométrico se basa en la cabeza de los espermatozoides, aunque también se pueden tomar mediciones de otras estructuras espermáticas (Yániz *et al.* 2015). Para esto se debe de tomar en cuenta que las muestras deben ser fijadas por medio de una tinción, esto para lograr resaltar las células del medio en el cual

se encuentran (Soler *et al.* 2005); lo cual acarrea una alteración en la estructura de la membrana (Cucho *et al.* 2019) que provoca que los resultados sean relativos a la morfometría real del espermatozoide evaluado (Soler y Cooper 2016).

Por otro lado, la tinción utilizada puede ser Hemacolor (Merck, Darmstadt, Alemania), Hematoxilina de Harris (Merck) o Diff-Quick (Baxter, Düringen, Suiza); algunos autores (García-Herreros *et al.* 2006) reportaron que las dos primeras técnicas logran una mejor tinción de los espermatozoides de cerdo, sin embargo, otros autores (Cucho *et al.* 2019) mencionan que no existen diferencias entre las técnicas de tinción. En la Figura 5 se esquematiza gráficamente la forma en la que el sistema CASA-Morph realiza la medición de las variables de tamaño y forma de la cabeza.

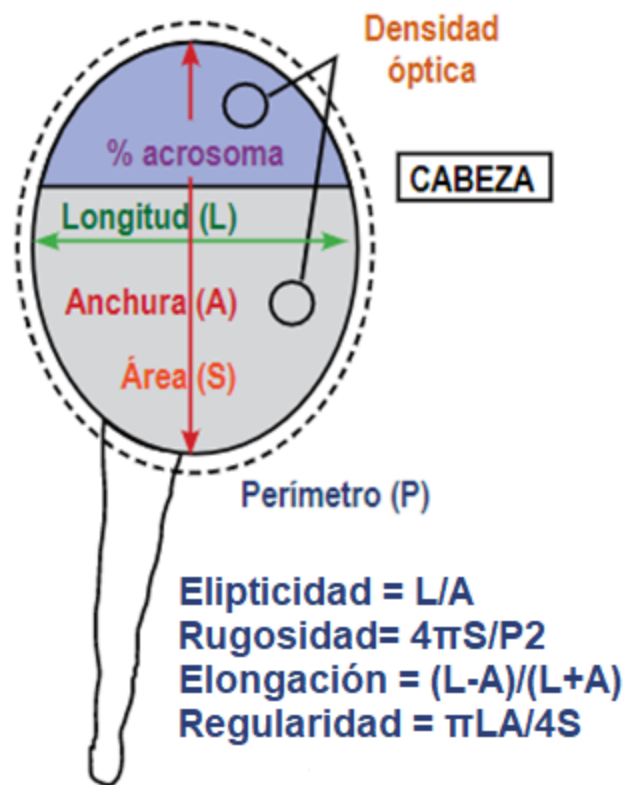


Figura 5. Variables morfométricas de tamaño y forma de la cabeza del espermatozoide medidas con el sistema CASA-Morph.

La longitud (L), la anchura (A), el área (S) y el perímetro (P) de la cabeza son evidentes. Los parámetros de forma son combinaciones matemáticas que siguen las expresiones indicadas anteriormente.

Fuente: Modificado de Valverde *et al.* (2017).

Al analizar el semen se presentan diferencias entre especies (Yániz *et al.* 2015); pero también se evidencian diferencias entre animales de diferentes razas (Fair y Romero-Aguirregomez 2019). Esto se puede deber a diversos factores predispuestos genéticamente (Amann y Waberski 2014) como a factores ocasionados por la interacción con el ambiente (Amann *et al.* 2018).

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de morfometría entre razas de verracos evaluados; siendo las diferencias entre Risco, Large White, Landrace y Yorker no significativas en la mayoría de variables; por su parte, Duroc se diferencia de las demás razas en todas sus variables de tamaño de la cabeza. No obstante, la forma de la cabeza presenta poca varianza al comparar el efecto racial (Saravia *et al.* 2007).

Cuadro 4. Efecto racial en dimensiones de cabeza de espermatozoides (medias \pm DE).

Raza	Duroc	Risco (híbrido)	Large White	Landrace	Yorker (híbrido)
Longitud (μ m)	9,10 \pm 0,34 ^a	9,00 \pm 0,31 ^b	8,80 \pm 0,34 ^c	8,80 \pm 0,39 ^c	8,80 \pm 0,29 ^c
Anchura (μ m)	4,60 \pm 0,19 ^a	4,50 \pm 0,15 ^b	4,50 \pm 0,16 ^b	4,50 \pm 0,17 ^b	4,50 \pm 0,15 ^b
Área (μ m ²)	36,20 \pm 1,71 ^a	34,90 \pm 1,40 ^b	34,40 \pm 1,67 ^b	34,70 \pm 1,82 ^b	34,50 \pm 1,43 ^b
Perímetro (μ m)	26,60 \pm 1,23 ^a	25,70 \pm 1,70 ^b	25,90 \pm 1,51 ^b	26,20 \pm 1,52 ^a	25,50 \pm 1,09 ^b
Elípticidad	2,00 \pm 0,11 ^a	2,00 \pm 0,09 ^b	1,90 \pm 0,10 ^c	1,90 \pm 0,11 ^b	1,90 \pm 0,09 ^b
Rugosidad	0,60 \pm 0,05 ^a	0,60 \pm 0,05 ^a	0,70 \pm 0,07 ^b	0,60 \pm 0,06 ^a	0,70 \pm 0,05 ^b
Elongación	0,30 \pm 0,02	0,30 \pm 0,02	0,30 \pm 0,02	0,30 \pm 0,02	0,30 \pm 0,02
Regularidad	0,90 \pm 0,02	0,90 \pm 0,02	0,90 \pm 0,02	0,90 \pm 0,02	0,90 \pm 0,01

Dentro de una fila, los valores con diferentes superíndices difieren estadísticamente, por lo que ^{a-e} $P < 0.01$. Elípticidad (L/W), rugosidad ($4\pi A/P^2$), alargamiento ($(L-W)/(L+W)$), regularidad ($\pi LW/4A$). Los valores son medias \pm D.E. ($n=4172$).

Fuente: Modificado de Saravia *et al.* (2007).

2.4. Fertilidad en cerdas

Al tomar como referencia la evaluación reproductiva de la cerda se debe tener en cuenta que esta se ve afectada por múltiples factores que influyen en el resultado final (Schulze *et al.* 2013). Dentro de estos, pueden encontrarse factores ambientales (Ngula *et al.* 2019), genéticos (Merks *et al.* 2000), anatómicos, fisiológicos (Vazquez *et al.* 2005) y seminales (Amann *et al.* 2018). Estos últimos dependen exclusivamente del animal y sus características sexuales, raciales, de edad, entre otros; y pueden influir positiva o negativamente sobre el resultado final debido a que la mitad del éxito se debe al verraco (Amann *et al.* 2018). En algunas variables del seminograma básico como la concentración en el eyaculado, el volumen de semen o el intervalo entre extracciones no se ha descrito un efecto significativo sobre variables de fertilidad como la tasa de preñez y tamaño de la camada (Schulze *et al.* 2013). Sin embargo, algunas variables del seminograma como la cinética (Fair y Romero-Aguirregomez *et al.* 2019) o la morfometría si han mostrado un efecto sobre la fertilidad en las hembras (Hirai *et al.* 2001).

Asimismo, la edad del verraco no posee una correlación significativa con la tasa de preñez y el tamaño de la camada (Schulze *et al.* 2013). En el análisis de las morfoanomalías, estos mismos autores refieren que estas pueden constituirse como un indicador respecto del tamaño de la camada, lo que sugiere una correlación negativa con el porcentaje de morfoanomalías, y esto se asocia con una reducción en el número de lechones nacidos totales (Petrocelli *et al.* 2003).

Además, la capacidad fecundante se relaciona positivamente con el índice de oscilación y la frecuencia de entrecruzamiento (Schulze *et al.* 2013) lo que quiere decir que entre mayores sean estos valores, el semen tendrá mayor capacidad y la probabilidad de concepción será mayor (Gadea 2001).

En el Cuadro 5 se observa una recopilación de estudios realizada por Fair y Romero-Aguirregomez *et al.* (2019) donde se presenta la correlación existente entre diversas variables de cinética espermática con parámetros reproductivos.

Cuadro 5. Estudios que detallan correlación positiva entre parámetros de cinética de espermatozoides, evaluados por CASA, y fertilidad.

Sistema CASA	Parámetros de cinética asociados con fertilidad	Parámetro de fertilidad
Hobson Sperm Tracker (Hobson Tracking Systems)	VSL	LS
UltiMate (Hamilton Thorne)	VCL, BCF, ALH, VSL, VAP	FR, TNB
SpermVision (Minitube)	BCF, WOB	PR
SpermVision (Minitube)	LIN, WOB, VCL, ALH	TNB
N/S CASA (Hamilton Thorne)	VCL, BCF	PR, FI

N/S: no especificado. VCL: velocidad curvilínea; VSL: velocidad rectilínea; VAP: velocidad media; LIN: índice de linealidad; STR: índice de rectitud; WOB: índice de oscilación; ALH: desplazamiento lateral de la cabeza; BCF: frecuencia de entrecruzamiento; LS: tamaño de camada; FR: tasa de parto; TNB: número total de lechones nacidos; PR: tasa de preñez; FI: índice de fertilidad (definido como el producto de PR x LS).

Fuente: Modificado de Fair y Romero-Aguirregomez (2019).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del sistema productivo

El experimento fue llevado a cabo en la granja comercial Agropecuaria Los Sagitarios, la cual se encuentra en Río Cuarto, Alajuela, Costa Rica, en las coordenadas CRTM05 X: 476875,227792 Y: 1146212,466957. La temperatura promedio durante el experimento fue de $25,60 \pm 2,94$ °C con un rango entre 17,60 a 34,70 °C.

3.2. Material experimental

El estudio comprendió once verracos de dos líneas genéticas comerciales (Pietrain y Duroc x Pietrain), el promedio de edad al inicio del experimento fue de $23,3 \pm 8,5$ meses. Las hembras utilizadas fueron 191 cerdas, las cuales estuvieron distribuidas entre nulíparas y múltiparas en edad reproductiva y fueron inseminadas con los eyaculados aportados por los verracos donantes de semen a razón de $17,4 \pm 7,1$ hembras por macho. Las hembras provenían de cuatro esquemas de cruzamiento a partir de las razas York (Y), Landrace (L) y Pietrain (P); los esquemas fueron: YLP-50 ($\frac{1}{4}$ Y x $\frac{1}{4}$ L x $\frac{1}{2}$ P), YLP-75 ($\frac{1}{8}$ Y x $\frac{1}{8}$ L x $\frac{3}{4}$ P), YLP-87.5 ($\frac{1}{16}$ Y x $\frac{1}{16}$ L x $\frac{7}{8}$ P) y Y-L-50 ($\frac{1}{2}$ Y x $\frac{1}{2}$ L). Los animales fueron alimentados con concentrado mezclado en la finca a base de maíz, harina de soya, mezcla mineral y sal, asegurando cumplir con los requerimientos nutricionales; para cerdas preñadas en los primeros dos tercios de la gestación se utilizaron 2,5 kg por día y para el tercer tercio se subió la ración a 3 kg, los machos tuvieron una ración de 2,5 kg por día. Todos los animales tuvieron acceso de agua *ad libitum*.

3.3. Extracción seminal y traslado

Las muestras seminales fueron colectadas en la mañana, una vez a la semana, por medio de la técnica de doble guante e inmediatamente fueron almacenadas a 37 °C para su posterior dilución a razón de $3,7 \times 10^9$ espermatozoides/ml con un diluyente comercial (Zoosperm ND5; Import-Vet, Barcelona, España). Las muestras fueron transportadas a 17 °C al Laboratorio de Andrología del Instituto Tecnológico

de Costa Rica, El mismo está ubicado en Santa Clara, San Carlos, Alajuela, Costa Rica. Al llegar al laboratorio se almacenaron a 17 °C por 18 horas.

3.4. Análisis espermático

Cada eyaculado fue homogenizado cuidadosamente por medio de agitación manual y dividido en dos submuestras con un volumen de 1 ml, las submuestras se colocaron en un tubo Eppendorf® (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EEUU) sobre una placa calefactora a 37 °C por 30 minutos antes de su uso.

3.4.1. Movilidad

Para el análisis de cinética y movilidad espermática se utilizó el sistema CASA-Mot ISAS®v1 (Proiser R+D, S.L. Valencia, España) con cámaras de recuento ISAS®D4C20 (Proiser R+D), las cuales fueron precalentadas a 37 °C para evitar un choque térmico al colocar los espermatozoides sobre ellas. Además, la base del microscopio también se calentó a 37 °C con una platina calefactora a 37,0±0,5 °C. Se utilizó una cámara de video (Proiser 782M, Proiser R+D), con una resolución final de 768 x 576 píxeles. La cámara estaba unida a un microscopio UB203 (UOP/Proiser R+D) con un ocular de 1x y un objetivo de contraste de fase negativo 10X (AN 0.25).

De cada muestra analizada se realizaron dos repeticiones y se tomaron siete campos a lo largo de la cámara de recuento para alcanzar un mínimo de 600 espermatozoides por muestra. Las variables cinéticas consideradas en el estudio fueron: la velocidad rectilínea (VSL, $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), correspondiente a la línea recta desde el principio hasta el final de la trayectoria; la velocidad curvilínea (VCL, $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), medida sobre la trayectoria real de punto a punto seguida por el espermatozoide; la velocidad de trayectoria promedio (VAP, $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), calculada como una interpolación entre los puntos correspondientes a la trayectoria de la VCL; la amplitud de desplazamiento lateral de la cabeza (ALH, μm), expresada como la altura máxima (o media) de la amplitud del movimiento oscilatorio de la trayectoria curvilínea; y la frecuencia de entrecruzamiento (BCF, Hz), expresada como el número de veces que la trayectoria curvilínea cruza la lineal. La configuración del software se ajustó

al análisis de espermatozoides de verraco: de 10 a 80 μm^2 , para el área de la cabeza, y 11 para conectividad. Además, se estimaron tres relaciones de progresión expresadas como porcentajes, a partir de las mediciones de velocidad descritas anteriormente: linealidad de la progresión directa ($\text{LIN} = \text{VSL} / \text{VCL} * 100$), rectitud ($\text{STR} = \text{VSL} / \text{VAP} * 100$) e índice de oscilación ($\text{WOB} = \text{VAP} / \text{VCL} * 100$).

3.4.2. Morfometría

Se utilizaron las submuestras de cada eyaculado para preparar dos placas colocando 10 μl sobre un portaobjetos previamente preparado, la muestra fue esparcida uniformemente y se dejó secar al aire. Los portaobjetos se tiñeron usando el kitt Diff-Quik® (Medion Diagnostics, Düringen, Suiza) según las indicaciones del fabricante. Todas las muestras fueron identificadas y selladas permanentemente con un cubreobjetos para su posterior análisis.

Para el análisis de morfometría espermática se utilizó el sistema CASA-Morph ISAS®v1 (Proiser R+D, S.L. Valencia, España), cuyas especificaciones se mencionaron anteriormente. El tamaño de la matriz de video fue de $746 \times 578 \times 8$ bits, proporcionando una resolución de las imágenes analizadas de 0,084 $\mu\text{m}/\text{pixel}$ en ambos ejes y 256 niveles de gris. La resolución de las imágenes fue de 0,08 μm por pixel en los ejes horizontal y vertical. La cabeza de los espermatozoides se capturó al azar en diferentes campos, rechazando sólo aquellas que se superponían con partículas de fondo u otras células que interferían con el procesamiento posterior de la imagen. La definición errónea inicial del límite de la cabeza del espermatozoide se corrigió variando el factor de análisis del sistema. Cuando no fue posible obtener un límite correcto, el espermatozoide se eliminó del análisis.

Se analizaron 200 espermatozoides por eyaculado a razón de 100 células por submuestra. Se tomaron ocho variables de cabeza, siendo las primeras cuatro de tamaño (longitud [L , μm], anchura [W , μm], área [A , μm^2], y perímetro [P , μm]) y las otras cuatro variables de forma siendo adimensionales derivadas de las variables de tamaño (elipticidad [L/W], rugosidad [$4\pi A/P^2$], elongación [$(L - W) / (L + W)$], y regularidad [$\pi LW/4A$]).

3.5. Parámetros reproductivos

Un total de 573 dosis de IA fueron utilizadas en 191 cerdas por triple inseminación intra-cervical (IIC) con el mismo eyaculado, para ello se utilizaron 40 eyaculados de once verracos y cada eyaculado se utilizó en al menos tres cerdas en los tres días posteriores a la colecta. Se tomaron los parámetros de número lechones nacidos totales (NT), lechones nacidos vivos (NV), lechones nacidos muertos (NM), número de momias (MM) y peso de la camada (PL; kg); estos parámetros fueron tomados al momento del parto.

3.6. Análisis estadístico

Los datos obtenidos para todos los análisis fueron analizados con estadística descriptiva y evaluados por medio de pruebas de normalidad y homocedasticidad, usando Shapiro-Wilk y la prueba de Levene. Además, se valoró la normalidad de todos los parámetros espermáticos utilizando papel probabilístico normal. Se utilizó un análisis multivariado para identificar subpoblaciones tanto en cinética como en morfometría espermática. Todos los valores de las variables de cinética y morfometría espermática fueron estandarizados para evitar efecto de escala.

3.6.1. Análisis multivariado

3.6.1.1. Cinética espermática

Se creó un subconjunto de datos con las medias por eyaculado de las ocho variables de cinética. Se realizaron procedimientos multivariados para identificar subpoblaciones de eyaculados a partir de este subconjunto de datos de cinética. Se realizó un análisis factorial principal (PFA) de estos datos para derivar un pequeño número de combinaciones lineales que aún conservaran la mayor cantidad de información posible de las variables originales. Las comunalidades anteriores para este análisis se estimaron a partir del coeficiente de correlación absoluto máximo entre cada variable y cualquier otra. El número de factores principales (PF) a extraer se determinó a partir del criterio de Kaiser, es decir, seleccionando solo aquellos con un valor propio >1 . También se aplicó la prueba KMO (Kaiser-Meyer-Olkin) (Spencer 2013) como una medida de la adecuación del conjunto de datos para la

extracción de factores. Como método de rotación, se utilizó el método varimax con la normalización de Kaiser (Kaiser 1958). Se exploraron las correlaciones entre los factores y las variables de cinética originales para comprender mejor el significado de los factores extraídos.

Además, se realizó un análisis para clasificar los eyaculados en un número reducido de subpoblaciones (grupos) en función de las puntuaciones obtenidas del análisis factorial. Esto se logró en dos fases, combinando procedimientos de agrupamiento jerárquico y no jerárquico. Primero, los puntajes de los factores para todas las eyaculaciones se agruparon jerárquicamente utilizando el método Ward de variación mínima (Murtagh y Legendre 2014). A partir de este análisis, se determinó un número óptimo de grupos en función de criterios como el Criterio de agrupación cúbica (CCC), Pseudo-T, Pseudo-F y R^2 parcial. En segundo lugar, el número óptimo de grupos obtenidos en el análisis anterior se usó como número objetivo de grupos en un análisis de grupo k-medias no jerárquico (Kaufman y Rousseeuw 1991).

Además, se aplicó un ANOVA para evaluar las diferencias estadísticas entre grupos para todas las variables de cinética. El umbral de significancia se definió como $P < 0,05$. Además, la comparación por pares entre las medias del grupo se realizó mediante la prueba de Tukey-Kramer. Los resultados se presentaron como media \pm desviación estándar de la media (DE). Todos los datos fueron analizados utilizando el programa estadístico SAS 9.4 (SAS 2013).

3.6.1.1.1. Modelo GLMM en parámetros de fertilidad de cerdas

Las variables de fertilidad de la cerda se analizaron mediante el uso de modelos lineales mixtos generalizados (GLMM). Las variables dependientes fueron el peso de la camada, el tamaño de la camada, lechones nacidos vivos, lechones nacidos muertos y número de momias. Se asumió una distribución normal con una función de enlace de identidad para el peso de la camada, mientras que se asumió una distribución de Poisson con una función de enlace de identidad de registro para todas las demás variables dependientes. La subpoblación de eyaculado obtenida del análisis multivariado se consideró como el principal factor independiente fijo en

el modelo. También se agregaron al modelo otros factores fijos con efectos potenciales sobre la fertilidad de la cerda, tales como: línea materna, línea paterna, interacción línea materna \times línea paterna, verraco anidado dentro de la línea paterna, mes de parto, duración del embarazo y período de tiempo entre eyaculado anterior y presente. También se agregó un efecto residual aleatorio al modelo para considerar la correlación entre diferentes eyaculados obtenidos del mismo verraco. El análisis GLMM se realizó con el programa estadístico SAS 9.4 (SAS 2013).

3.6.1.2. Morfometría espermática

El primer proceso realizado fue un análisis de componentes principales (PCA) de datos morfométricos para derivar un pequeño número de combinaciones lineales que aún conservaran la mayor cantidad de información posible de las variables originales. El número de componentes principales (PC) utilizados en la siguiente parte del análisis se determinó a partir del criterio de Kaiser, es decir, seleccionando solo aquellos con un valor propio (varianza extraída de cada PC) > 1 . Además, se realizaron las pruebas de esfericidad de Bartlett y el KMO (Kaiser-Meyer-Olkin) (Spencer 2013). Como método de rotación, se utilizó el método varimax con la normalización de Kaiser (Kaiser 1958).

En el segundo proceso se realizó un análisis no jerárquico con el modelo de k-medias que utiliza distancias Euclídeas de las variables cuantitativas después de la estandarización de estos datos, por lo que los centros de agrupación fueron las medias de las observaciones asignadas a cada agrupación (Kaufman y Rousseeuw 2005). El análisis multivariado de grupos de k-medias se realizó para clasificar los espermatozoides en un número reducido de subpoblaciones (grupos) de acuerdo con sus variables morfométricas. En el proceso final, para determinar el número óptimo de grupos, los centroides finales se agruparon jerárquicamente utilizando el método Ward (Murtagh y Legendre 2014). Por lo tanto, el procedimiento de agrupamiento permite la identificación de subpoblaciones de espermatozoides porque cada grupo contribuyó a un grupo final formado por los espermatozoides unidos a los centroides. Los procedimientos ANOVA y χ^2 se aplicaron para evaluar las diferencias estadísticas en las distribuciones de observaciones

(espermatozoides individuales) dentro de las subpoblaciones y luego se utilizó un procedimiento de modelo lineal generalizado (GLM) para determinar los efectos de las líneas genéticas paternas y maternas sobre los valores medios de las variables morfométrica que se definieron en las diferentes subpoblaciones de espermatozoides (es decir, los centros de agrupación). Las diferencias entre medias se analizaron mediante la prueba de Bonferroni. Los resultados se presentan como media \pm desviación estándar (DE). La significación estadística se consideró en $P < 0,05$. Todos los datos se analizaron utilizando el paquete IBM SPSS, versión 23.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.).

3.6.2. Estadística Bayesiana

Las diferencias en parámetros de cinética y morfometría espermática se estimaron con un modelo que incluía el efecto del cruce de la madre y el padre como efecto permanente. El número del macho se incluyó como un efecto aleatorio. Todos los análisis se realizaron utilizando la metodología Bayesiana. Se utilizó la media posterior de la diferencia entre los cruces de líneas maternas para las variables de fertilidad (D) y la línea paterna (efecto macho), a partir del intervalo de probabilidad más corto en la región de densidad posterior más alta al 95% (HPD_{95%}) considerando la probabilidad de que la diferencia sea positiva cuando $D > 0$ o negativa cuando se calculó $D < 0$ (P_0). Además, se calculó la media posterior de la diferencia entre las subpoblaciones para las variables de fertilidad, cinética y morfometría espermática. Se utilizaron *a priori* planos para todos los efectos. Los residuos se distribuyeron de forma normal, *a priori*, con media 0 y varianza σ^2_e . Se consideró un tercio de la desviación estándar (DE) de cada variable como un valor relevante (R), y también se calculó la probabilidad de relevancia (P_R ; es decir, la probabilidad de que la diferencia sea mayor que R cuando $D > 0$ o menor que R cuando $D < 0$). Los *a priori* de las varianzas también fueron planos. Las características de las distribuciones posteriores marginales para todas las incógnitas se estimaron mediante el muestreo de Gibbs. La convergencia se probó utilizando el criterio Z de Geweke (Sorensen y Gianola 2002) y los errores de muestreo de la cadenas de Monte Carlo se calcularon utilizando los procedimientos

de series de tiempo descritos en Geyer (1992). El programa Rabbit, desarrollado por el Instituto de Ciencia y Tecnología Animal (Valencia, España), se utilizó para todos los procedimientos.

4. RESULTADOS

El promedio (\pm DE) de movilidad, concentración espermática, volumen de semen producido y número total de espermatozoides por eyaculado fue de $77,36 \pm 11,17$ %, $374,23 \pm 129,24 \times 10^6/\text{ml}$, $231,98 \pm 63,08$ ml y $82,04 \pm 23,73 \times 10^9$ respectivamente. El promedio de concentración por línea paterna fue $361,00 \pm 112,35 \times 10^6/\text{ml}$ (Pietrain) y $378,63 \pm 134,98 \times 10^6/\text{ml}$ (Duroc x Pietrain). La tasa de preñez fue de $69,90 \pm 21,67$ %

4.1. Cinética espermática

El promedio (\pm DE) de la movilidad total (%) de las muestras por línea paterna fue $65,61 \pm 11,73$ (Pietrain) y $81,28 \pm 7,76$ (Duroc x Pietrain). La movilidad progresiva (%) de los espermatozoides por línea paterna: Pietrain y Duroc x Pietrain fue $54,04 \pm 12,19$ y $67,01 \pm 10,05$ respectivamente.

4.1.1. Análisis estructural de las subpoblaciones de eyaculados

Se determinaron cuatro subpoblaciones espermáticas (SPs), que fueron definidas por análisis jerárquico (análisis de cluster de la varianza mínima de Ward) para agrupar luego (método *k*-medias) los datos en el número de SPs definidas (Cuadro 6). Los parámetros de cinética fueron caracterizados por el movimiento espermático de las SPs como: subpoblación 1 (SP1) la cual mostró los eyaculados con movimiento rápido y progresivo con la VCL y VAP más alta ($92,08 \pm 5,12 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$; $51,79 \pm 3,28 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ respectivamente) pero esos eyaculados presentaron un movimiento ondulatorio indicado por los valores elevados de BCF y ALH ($8,93 \pm 0,59$ Hz; $3,46 \pm 0,23 \mu\text{m}\cdot\text{s}$ respectivamente). La subpoblación 2 (SP2) estuvo representada por eyaculados de velocidad media y progresivos caracterizados por la VSL ($42,91 \pm 2,76 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) y el valor más elevado de LIN y STR ($57,17 \pm 3,59$ %; $82,34 \pm 1,50$ % respectivamente). La subpoblación 3 (SP3) contenía los eyaculados con movimiento lento pero progresivos y con movimiento ondulatorio indicado por los valores medios de WOB y BCF ($63,72 \pm 2,86$ %; $8,73 \pm 0,52$ Hz respectivamente) y un valor intermedio de STR ($75,72 \pm 5,58$ %). Finalmente, la subpoblación 4 (SP4) se caracterizó por presentar eyaculados con movimiento lento no progresivo como

lo indica el valor más bajo de VAP ($37,21 \pm 5,56 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), junto con los valores más bajos de LIN y STR ($37,26 \pm 5,37 \%$; $65,48 \pm 6,66 \%$ respectivamente).

Cuadro 6. Variables de cinética (media \pm DE) de las cuatro subpoblaciones (SPs) de eyaculados.

Variable	SP1	SP2	SP3	SP4
VCL	$92,08 \pm 5,12^a$	$75,19 \pm 4,54^b$	$65,48 \pm 6,07^c$	$68,57 \pm 9,98^{bc}$
VSL	$38,09 \pm 6,52^a$	$42,91 \pm 2,76^a$	$31,69 \pm 3,48^b$	$24,00 \pm 4,68^c$
VAP	$51,79 \pm 3,28^a$	$50,16 \pm 3,43^a$	$41,30 \pm 3,43^b$	$37,21 \pm 5,56^b$
LIN	$42,23 \pm 6,68^c$	$57,17 \pm 3,59^a$	$49,53 \pm 4,49^b$	$37,26 \pm 5,37^c$
STR	$71,44 \pm 7,51^{bc}$	$82,34 \pm 1,50^a$	$75,72 \pm 5,58^b$	$65,48 \pm 6,66^c$
WOB	$57,49 \pm 4,54^b$	$67,35 \pm 3,61^a$	$63,72 \pm 2,86^a$	$55,45 \pm 3,75^b$
ALH	$3,46 \pm 0,23^a$	$2,73 \pm 0,17^b$	$2,47 \pm 0,20^b$	$2,70 \pm 0,35^b$
BCF	$8,93 \pm 0,59$	$8,36 \pm 0,43$	$8,73 \pm 0,52$	$8,44 \pm 0,87$

SPs: subpoblación espermática. SP1: rápida, progresiva y ondulatoria; SP2: velocidad media y linear progresiva; SP3: lenta, progresiva y ondulatoria; SP4: velocidad lenta, no linear y no progresiva. Número de eyaculados = 40. VCL = velocidad curvilínea ($\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$); VSL = velocidad rectilínea ($\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$); VAP = velocidad promedio ($\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$); LIN = linealidad de la progresión directa (%); STR = rectitud (%); WOB = oscilación (%); ALH = amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (μm); BCF = frecuencia entrecruzamiento (Hz). DE = desviación estándar. ^{a-d} Diferentes letras indican diferencias entre subpoblaciones de eyaculados. $P < 0,05$.

De acuerdo con los resultados de factores principales (PFs), el análisis indicó dos PFs: progresividad (PF1) representada por LIN, STR, WOB y VSL, con un efecto mayor por el valor propio de LIN (0,989); velocidad (PF2) que se refiere a VCL, VAP, VSL y ALH, con un efecto mayor de VCL (0,979) (Figura 6). Estos resultados explican el 98,00 % de la varianza total e indican que la progresividad espermática tiene un efecto relativamente mayor en la varianza total explicada que la velocidad (Cuadro 7).

Cuadro 7. Vectores propios de los factores principales (PFs)* para variables de cinética espermática de verraco.

Variable	PF1	PF2
VCL		0,979
VSL	0,751	0,604
VAP		0,858
LIN	0,989	
STR	0,924	
WOB	0,891	
ALH		0,907
BCF		
Var Exp	53,07	44,93

Var Exp: varianza explicada en cada PF. Varianza total explicada: 98,00%. *Expresa las variables más importantes en cada PF. Solamente vectores propios > 0,6 son presentados. VCL = velocidad curvilínea; VSL = velocidad rectilínea; VAP = velocidad promedio; LIN = linealidad de la progresión directa; STR = rectitud; WOB = oscilación; ALH = amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza; BCF = frecuencia entrecruzamiento.

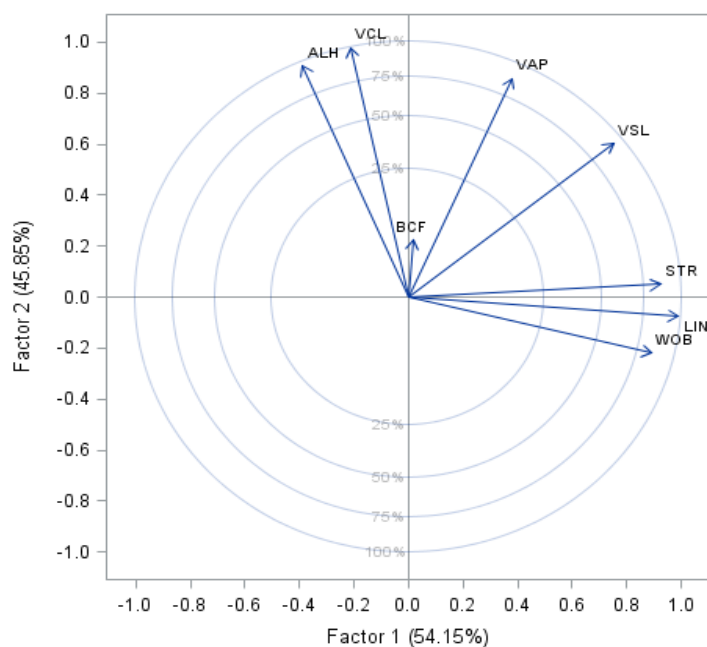


Figura 6. Patrón de factor rotado de vectores propios de factores principales (PF) para variables cinéticas de espermatozoides de verraco.

4.1.2. Tasa de fertilidad por línea genética de cerdas y verracos

Los resultados dados por la tasa de fertilidad mostraron que las líneas genéticas de cerdas no presentaron diferencias ($P > 0,05$) para las variables de fertilidad. Sin embargo, usando la línea híbrida (Y-L-50) como referencia en todos los parámetros, esta mostró una tendencia a presentar valores más altos de NT ($10,44 \pm 0,96$), NV ($9,45 \pm 0,92$) y NM ($0,65 \pm 0,21$). El cruce YLP-87.5 mostró de igual forma una tendencia con valores bajos de MM ($0,13 \pm 0,08$) seguida por Y-L-50 ($0,15 \pm 0,11$). Las camadas provenientes del cruce YLP-75 (7.06 ± 0.60 kg) presentaron una tendencia a ser más pesadas y representó el 103,22 % del valor de Y-L-50 (Figura 7). Respecto de las líneas paternas, el cruce Duroc x Pietrain mostró un valor mayor ($P < 0,05$) de NM (0.74 ± 0.16) que Pietrain, sin embargo, no hubo diferencias entre las líneas paternas para las otras variables de fertilidad ($P > 0,05$). Cuando se utilizó Pietrain como referencia, este tuvo menos valores de MM ($0,13 \pm 0,09$), pero Duroc x Pietrain presentó los valores más altos en NT ($10,27 \pm 0,65$) y NV ($9,08 \pm 0,61$) (Cuadro 8).

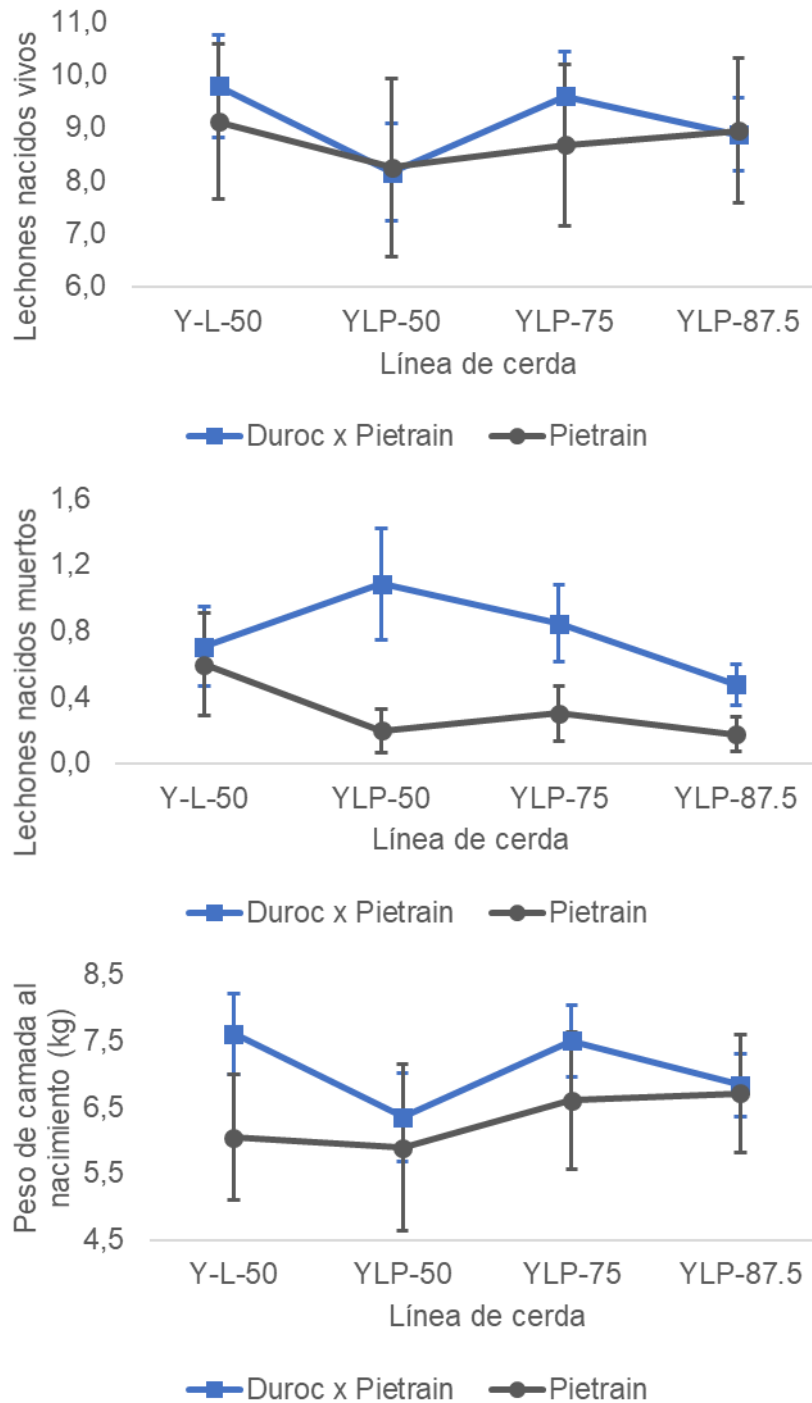


Figura 7. Efecto de la línea genética maternal sobre los valores de lechones nacidos vivos, lechones nacidos muertos y peso de la camada al nacimiento (kg).

Y: York, L: Landrace, P: Pietrain, YLP-50 = ($\frac{1}{4}$ Y x $\frac{1}{4}$ L x $\frac{1}{2}$ P), YLP-75 = ($\frac{1}{8}$ Y x $\frac{1}{8}$ L x $\frac{3}{4}$ P), YLP-87.5 = ($\frac{1}{16}$ Y x $\frac{1}{16}$ L x $\frac{7}{8}$ P), Y-L-50: $\frac{1}{2}$ Y x $\frac{1}{2}$ L.

Cuadro 8. Tasa de fertilidad (media \pm DE) dada por línea genética de verracos (porcentaje de variación con respecto a Pietrain en paréntesis).

	NT	NV	NM	MM	PL
Pietrain	8,93 \pm 0,93	8,74 \pm 0,97	0,28 \pm 0,11 ^b	0,13 \pm 0,09	6,31 \pm 0,66
Duroc x Pietrain	10,27 \pm 0,65 (115,01 %)	9,08 \pm 0,61 (103,89 %)	0,74 \pm 0,16 ^a (264,29 %)	0,24 \pm 0,07 (184,61 %)	7,08 \pm 0,41 (112,2 %)

DE: desviación estándar. NT: lechones nacidos totales, NV: lechones nacidos vivos, NM: lechones nacidos muertos, MM: número de momias, PL: peso de camada (kg). ^{a-b} Diferentes letras indican diferencias entre líneas de machos. $P < 0,05$.

4.1.3. Relación entre parámetros de cinética y fertilidad

Los eyaculados que fueron caracterizados por subpoblaciones se utilizaron para inseminar cerdas y esas hembras fueron agrupadas en conglomerados. Los datos de fertilidad resultantes indicaron que no hubo diferencias ($P > 0,05$). Sin embargo, se observaron tendencias tales como: la SP1 presentó un valor más alto de NM (1,03 \pm 2,68), pero menos MM (0,13 \pm 0,56); sin embargo, el PL fue alto (6,87 \pm 2,49 kg). La SP2 estuvo compuesta por eyaculados que presentaron camadas con lechones más livianos (6.27 \pm 2.64 kg) que las otras SPs y valores más elevados de MM (0,49 \pm 1,79). La SP3 se exhibió con tasas de fertilidad intermedias en todas las categorías, exhibiendo un valor más alto de NT (10,36 \pm 4,30) y NV (9,06 \pm 3,99) que la SP1 y SP2. Finalmente, la SP4 presentó los lechones más pesados (7,04 \pm 2,60 kg) y mayores valores de NT (10,61 \pm 3,92) que las otras SPs; además, reportó el menor valor de NM (0,53 \pm 0,67), debido a esto, esta subpoblación presentó la mayor cantidad de NV (9,78 \pm 3,86).

4.1.4. Análisis de relevancia Bayesiana

El análisis Bayesiano mostró que la comparación de machos no fue relevante y esos resultados fueron los mismos que con los procedimientos de estadística multivariada. Sin embargo, considerando la probabilidad de diferencia de las líneas maternas, aun cuando las diferencias fueron no significativas ($P > 0,05$), estas diferencias fueron consideradas relevantes para NT y PL cuando se compararon

todas las líneas maternas, y las diferencias en NV fueron relevantes para todas las líneas maternas excepto al comparar YLP-50 – YLP-75 (Cuadro 9).

Cuadro 9. Variables de fertilidad y distribución marginal posterior estimada de las diferencias entre líneas maternas.

	D^1	HPD _{95%} ²	P_0^3	P_R^4
NT				
FL ₁ -FL ₂	-0,99	-1,03, -0,96	1,00	1,00
FL ₁ -FL ₃	0,56	0,52, 0,59	1,00	1,00
FL ₁ -FL ₄	-1,44	-1,48, -1,41	1,00	1,00
FL ₂ -FL ₃	1,55	1,52, 1,58	1,00	1,00
FL ₂ -FL ₄	-0,45	-0,48, -0,42	1,00	1,00
FL ₃ -FL ₄	-2,00	-2,03, -1,97	1,00	1,00
NV				
FL ₁ -FL ₂	-1,28	-1,31, -1,24	1,00	0,06
FL ₁ -FL ₃	-0,08	-0,11, -0,05	1,00	1,00
FL ₁ -FL ₄	1,17	-1,21, -1,13	1,00	1,00
FL ₂ -FL ₃	1,20	1,17, 1,23	1,00	1,00
FL ₂ -FL ₄	0,11	0,08, 0,14	1,00	1,00
FL ₃ -FL ₄	-1,09	-1,12, -1,06	1,00	1,00
PL				
FL ₁ -FL ₂	-0,59	-0,61, -0,56	1,00	1,00
FL ₁ -FL ₃	-0,09	-0,11, -0,06	1,00	1,00
FL ₁ -FL ₄	-0,16	-0,19, -0,13	1,00	1,00
FL ₂ -FL ₃	0,50	0,48, 0,52	1,00	1,00
FL ₂ -FL ₄	0,43	0,40, 0,45	1,00	1,00
FL ₃ -FL ₄	-0,08	-0,10, -0,05	1,00	1,00

¹ D : media de la distribución posterior marginal de la diferencia entre FL₁, FL₂, FL₃ y FL₄, donde FL es la línea materna; ²HPD_{95%}, región de mayor densidad posterior 95 %; ³ P_0 , probabilidad de que la diferencia sea mayor que cero cuando $D > 0$ y la probabilidad de que la diferencia sea menor que cero cuando $D < 0$; R: valor relevante; ⁴ P_R , probabilidad de que la diferencia sea mayor que R cuando $D > 0$ y menor que R cuando $D < 0$. NT: lechones

nacidos totales, NV: lechones nacidos vivos, NM: lechones nacidos muertos, MM: número de momias, PL: peso de camada (kg).

Cuando la relevancia de los contrastes entre subpoblaciones de eyaculados fue analizada, el análisis Bayesiano de los datos mostró relevancia en las siguientes comparaciones de SPs: SP2-SP4 (para NT); SP2-SP4 (para NV); SP2-SP4 (para PL); SP1-SP3, SP2-SP3-SP4, (para VCL); SP1-SP4, SP2-SP3 (para VAP); SP1-SP4, SP2-SP3 (para LIN); SP2-SP3, SP3-SP4 (para STR); SP1-SP4, SP2-SP3 (para WOB); SP1-SP3, SP2-SP3, SP2-SP4, SP3-SP4 (para ALH); SP1-SP4, SP2-SP3 (para BCF) (Cuadro 10). Por lo tanto, las subpoblaciones SP1, SP2, SP3 y SP4 no mostraron diferencias ($P > 0,05$) para las variables de fertilidad cuando se utilizó la estadística multivariada y estas diferencias solo fueron relevantes entre las subpoblaciones SP2-SP4 en el análisis Bayesiano. Por otro lado, la VSL fue la única variable de cinética espermática no relevante; la VCL y ALH presentaron relevancia en las mismas cuatros comparaciones de SPs. Las variables VAP, LIN, WOB y BCF presentaron el mismo comportamiento en SP1-SP4 y SP2-SP3, sin embargo, la BCF no mostró diferencias ($P > 0,05$) en los procedimientos multivariados, pero con el análisis Bayesiano los contrastes entre subpoblaciones si fueron relevantes. Finalmente, para la variable STR los contrastes entre subpoblaciones fueron relevantes únicamente entre SP2-SP3 y SP3-SP4.

Cuadro 10. Variables de cinética y de fertilidad de los espermatozoides de verraco y distribución marginal posterior estimada de las diferencias entre las subpoblaciones de eyaculados.

	Media \pm r.d.e.	CV	D^1	HPD _{95%} ²	P_0^3	P_R^4
Fertilidad						
NT	9,56 \pm 3,24	39,45				
SP ₁ -SP ₂			3,89	-0,66, 8,75	0,85	0,36
SP ₁ -SP ₃			1,53	-1,90, 5,91	0,66	0,47
SP ₁ -SP ₄			3,36	-0,12, 7,03	0,97	0,27
SP ₂ -SP ₃			-2,37	-4,33, -0,02	0,98	0,19
SP ₂ -SP ₄			-0,53	-2,44, 1,83	0,63	0,63
SP ₃ -SP ₄			1,84	0,55, 2,76	1,00	0,18

NV	8,37±3,09	43,14				
SP ₁ -SP ₂			3,82	-0,51, 8,46	0,86	0,35
SP ₁ -SP ₃			1,63	-1,63, 5,81	0,67	0,45
SP ₁ -SP ₄			3,05	-0,24, 6,56	0,95	0,33
SP ₂ -SP ₃			-2,19	-4,15, -0,15	0,01	0,21
SP ₂ -SP ₄			-0,77	-2,59, 1,47	0,70	0,57
SP ₃ -SP ₄			1,42	0,20, 2,31	0,99	0,32
PL	5,71±2,33	47,66				
SP ₁ -SP ₂			2,81	-0,46, 6,30	0,85	0,35
SP ₁ -SP ₃			1,26	-1,19, 4,41	0,68	0,44
SP ₁ -SP ₄			2,63	0,15, 5,28	0,99	0,18
SP ₂ -SP ₃			-1,54	-3,05, -0,04	0,97	0,22
SP ₂ -SP ₄			-0,18	-1,50, 1,56	0,54	0,66
SP ₃ -SP ₄			1,37	0,45, 2,03	1,00	0,13
Variables de cinética						
VCL	70,95±32,10	46,07				
SP ₁ -SP ₂			-14,00	-31,78, 4,82	0,86	0,33
SP ₁ -SP ₃			-9,03	-23,73, 4,70	0,88	0,61
SP ₁ -SP ₄			-8,83	-48,84, 21,39	0,67	0,53
SP ₂ -SP ₃			4,96	-5,32, 19,26	0,72	0,78
SP ₂ -SP ₄			5,16	-25,29, 32,36	0,74	0,77
SP ₃ -SP ₄			0,20	-43,50, 24,46	0,61	0,72
VSL	51,41±28,89	62,64				
SP ₁ -SP ₂			5,50	-17,28, 25,23	0,30	0,51
SP ₁ -SP ₃			17,38	-2,95, 28,13	0,08	0,13
SP ₁ -SP ₄			-16,05	-49,25, 13,15	0,72	0,37
SP ₂ -SP ₃			11,88	-10,96, 40,79	0,68	0,45
SP ₂ -SP ₄			-21,56	-39,97, 9,80	0,13	0,20
SP ₃ -SP ₄			-33,44	-73,73, 11,87	0,87	0,26
VAP	40,35±19,74	67,72				
SP ₁ -SP ₂			10,76	1,93, 20,67	0,01	0,34

SP ₁ -SP ₃	14,55	-2,93, 29,77	0,95	0,24
SP ₁ -SP ₄	2,65	-10,19, 15,61	0,59	0,66
SP ₂ -SP ₃	3,79	-15,75, 26,19	0,59	0,67
SP ₂ -SP ₄	-8,11	-23,78, 5,76	0,76	0,48
SP ₃ -SP ₄	-11,90	-22,79, 3,73	0,94	0,20
LIN	45,77±19,28	42,88		
SP ₁ -SP ₂	-13,53	-24,21, -2,23	1,00	0,19
SP ₁ -SP ₃	-9,83	-18,66, -1,59	0,99	0,31
SP ₁ -SP ₄	-4,37	-28,40, 13,78	0,66	0,58
SP ₂ -SP ₃	3,69	-2,48, 12,28	0,80	0,77
SP ₂ -SP ₄	9,16	-9,13, 25,49	0,90	0,32
SP ₃ -SP ₄	5,46	-20,78, 20,03	0,76	0,47
STR	72,68±22,23	31,14		
SP ₁ -SP ₂	-14,19	-26,51, -1,16	0,99	0,21
SP ₁ -SP ₃	-10,57	-20,74, -1,06	0,98	0,35
SP ₁ -SP ₄	-6,46	-34,16, 14,47	0,67	0,52
SP ₂ -SP ₃	3,63	-3,49, 13,53	0,74	0,77
SP ₂ -SP ₄	7,74	-13,36, 26,57	0,88	0,47
SP ₃ -SP ₄	4,11	-26,16, 20,91	0,74	0,56
WOB	60,47±13,69	23,05		
SP ₁ -SP ₂	-9,96	-17,54, -1,93	1,00	0,18
SP ₁ -SP ₃	-7,13	-13,39, -1,27	1,00	0,29
SP ₁ -SP ₄	-2,47	-19,53, 10,41	0,65	0,62
SP ₂ -SP ₃	2,83	-1,55, 8,93	0,83	0,76
SP ₂ -SP ₄	7,49	-5,50, 19,08	0,91	0,22
SP ₃ -SP ₄	4,65	-13,98, 15,00	0,77	0,42
ALH	2,21±1,19	54,71		
SP ₁ -SP ₂	-0,52	-1,18, 0,18	0,86	0,32
SP ₁ -SP ₃	-0,32	-0,86, 0,19	0,87	0,62
SP ₁ -SP ₄	-0,44	-1,92, 0,68	0,69	0,44
SP ₂ -SP ₃	0,20	-0,18, 0,72	0,74	0,77

SP ₂ -SP ₄	0,08	-1,05, 1,08	0,63	0,84
SP ₃ -SP ₄	-0,12	-1,73, 0,78	0,49	0,79
BCF	8,35±3,32	40,54		
SP ₁ -SP ₂	-1,78	-3,63, 0,16	0,93	0,24
SP ₁ -SP ₃	-1,44	-2,96, -0,02	0,97	0,40
SP ₁ -SP ₄	-0,62	-4,76, 2,51	0,65	0,60
SP ₂ -SP ₃	0,34	-0,72, 1,82	0,61	0,80
SP ₂ -SP ₄	1,17	-1,98, 3,98	0,88	0,45
SP ₃ -SP ₄	0,83	-3,70, 3,34	0,76	0,48

¹D: media de la distribución posterior marginal de la diferencia entre SP₁, SP₂, SP₃ and SP₄, donde SP es una subpoblación de eyaculados; ²HPD_{95%}, región de mayor densidad posterior al 95%; ³P₀, probabilidad de que la diferencia sea mayor que cero cuando D>0 y la probabilidad de que la diferencia sea menor que cero cuando D<0; R: valor relevante; ⁴P_R, probabilidad de que la diferencia sea mayor que R cuando D> 0 y menor que R cuando D <0. Número de células = 88102. r.d.e: desviación estándar residual. CV: coeficiente de variación (%). NT: lechones nacidos totales, NV: lechones nacidos vivos, NM: lechones nacidos muertos, MM: números de momias, PL: peso de camada (kg). VCL = velocidad curvilínea (μm·s⁻¹); VSL = velocidad rectilínea (μm·s⁻¹); VAP = velocidad promedio (μm·s⁻¹); LIN = linealidad de la progresión directa (%); STR = rectitud (%); WOB = oscilación (%); ALH = amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (μm); BCF = frecuencia entrecruzamiento (Hz).

4.2. Morfometría espermática

Las variables de tamaño de la cabeza mostraron que hubo un efecto (P> 0,05) de la línea paterna de la cual provino el semen como de la línea materna en la cual fue utilizado el mismo (Cuadro 11); sin embargo, para las variables de forma de la cabeza no hubo diferencias (P> 0,05) entre las líneas paternas ni maternas. Las cabezas de los espermatozoides de la línea Duroc x Pietrain fueron más largas y anchas que los de la línea Pietrain (P< 0,05).

Cuadro 11. Variables de morfometría (media \pm DE) del tamaño y forma de la cabeza del espermatozoide de verraco en diferentes cruces de machos y dosis de IA usadas en cerdas de cuatro grupos raciales.

Línea genética/Variable	Longitud	Anchura	Área	Perímetro	Elipticidad	Rugosidad	Elongación	Regularidad
Verraco								
Duroc x Pietrain	8,77 \pm 0,53 ^β	4,54 \pm 0,22 ^β	35,46 \pm 2,39 ^β	24,34 \pm 1,06 ^β	1,94 \pm 0,14	0,75 \pm 0,04 ^α	0,32 \pm 0,03	0,88 \pm 0,04
Pietrain	8,62 \pm 0,60 ^α	4,46 \pm 0,23 ^α	34,20 \pm 2,47 ^α	23,84 \pm 1,13 ^α	1,94 \pm 0,17	0,76 \pm 0,04 ^β	0,32 \pm 0,04	0,88 \pm 0,04
Cerde								
YLP-50	8,70 \pm 0,52 ^a	4,50 \pm 0,23 ^a	34,94 \pm 2,33 ^a	24,15 \pm 1,03 ^a	1,94 \pm 0,15	0,75 \pm 0,04	0,32 \pm 0,03	0,88 \pm 0,04
YLP-75	8,78 \pm 0,55 ^c	4,53 \pm 0,22 ^c	35,38 \pm 2,53 ^c	24,31 \pm 1,11 ^c	1,94 \pm 0,14	0,75 \pm 0,04	0,32 \pm 0,03	0,88 \pm 0,04
YLP-87.5	8,74 \pm 0,53 ^b	4,51 \pm 0,23 ^b	35,08 \pm 2,46 ^b	24,23 \pm 1,05 ^b	1,95 \pm 0,15	0,75 \pm 0,04	0,32 \pm 0,03	0,88 \pm 0,04
Y-L-50	8,75 \pm 0,56 ^b	4,51 \pm 0,22 ^b	35,07 \pm 2,28 ^b	24,19 \pm 1,06 ^{ab}	1,94 \pm 0,15	0,75 \pm 0,04	0,32 \pm 0,04	0,88 \pm 0,04

IA: inseminación artificial. DE: desviación estándar. Longitud [L, μm], Anchura [W, μm], Área [A, μm^2], Perímetro [P, μm], Elipticidad [L/W], Rugosidad [$4\pi A/P^2$], Elongación [(L - W)/(L + W)], Regularidad [$\pi LW/4A$]. Y: York, L: Landrace, P: Pietrain, YLP-50 = ($\frac{1}{4}$ Y x $\frac{1}{4}$ L x $\frac{1}{2}$ P), YLP-75 = ($\frac{1}{8}$ Y x $\frac{1}{8}$ L x $\frac{3}{4}$ P), YLP-87.5 = ($\frac{1}{16}$ Y x $\frac{1}{16}$ L x $\frac{7}{8}$ P), Y-L-50: $\frac{1}{2}$ Y x $\frac{1}{2}$ L. ^{α-β} Diferentes letras indican diferencias entre líneas genéticas de verracos ^{a-d} Diferentes letras indican diferencias entre líneas genéticas de cerdas. P < 0.05.

4.2.1. Parámetros de fertilidad

Al contrastar las líneas genéticas paternas se obtuvo una diferencia significativa ($P < 0,05$) debido a que del semen de los machos Duroc x Pietrain hubo más lechones totales ($10,53 \pm 3,94$) que del semen de verracos Pietrain ($9,72 \pm 4,24$), y este comportamiento fue similar para el caso de los lechones nacidos vivos y lechones nacidos muertos; aun cuando esta última variable es deseable que se mantenga cercana a cero. El peso de los lechones provenientes de la línea Pietrain fue inferior ($P < 0,05$) y el número de momias también fue inferior respecto del semen proveniente de los verracos Duroc x Pietrain (Cuadro 12).

Cuadro 12. Variables de fertilidad (media \pm DE) de tamaño de camada y mortalidad embrionaria de lechones provenientes de semen de dos líneas genéticas de verracos y utilizado sobre cuatro líneas genéticas de cerdas.

Línea genética/Variable	NT	NV	NM	MM	PL
Verraco					
Pietrain	9,72 \pm 4,24 ^a	8,89 \pm 3,77 ^a	0,65 \pm 0,95 ^a	0,19 \pm 0,35 ^a	6,47 \pm 2,61 ^a
Duroc x Pietrain	10,53 \pm 3,94 ^b	9,46 \pm 3,70 ^b	0,80 \pm 1,11 ^b	0,26 \pm 0,64 ^b	7,08 \pm 2,54 ^b
Cerde					
YLP-50	10,12 \pm 3,54 ^a	8,71 \pm 3,39 ^a	1,13 \pm 1,08 ^d	0,28 \pm 0,6 ^b	6,34 \pm 2,16 ^a
YLP-75	10,37 \pm 4,03 ^b	9,26 \pm 3,53 ^b	0,88 \pm 1,33 ^c	0,23 \pm 0,56 ^a	7,02 \pm 2,47 ^c
YLP-87.5	10,01 \pm 3,89 ^a	9,25 \pm 3,64 ^b	0,55 \pm 1,00 ^a	0,22 \pm 0,51 ^a	6,89 \pm 2,60 ^b
Y-L-50	10,76 \pm 4,55 ^c	9,64 \pm 4,30 ^c	0,77 \pm 0,69 ^b	0,35 \pm 0,75 ^c	6,84 \pm 2,85 ^b

DE: desviación estándar. NT: lechones nacidos totales, NV: lechones nacidos vivos, NM: lechones nacidos muertos, MM: número de momias, PL: peso de camada (kg). Y: York, L: Landrace, P: Pietrain, YLP-50 = ($\frac{1}{4}$ Y x $\frac{1}{4}$ L x $\frac{1}{2}$ P), YLP-75 = ($\frac{1}{8}$ Y x $\frac{1}{8}$ L x $\frac{3}{4}$ P), YLP-87.5 = ($\frac{1}{16}$ Y x $\frac{1}{16}$ L x $\frac{7}{8}$ P), Y-L-50: $\frac{1}{2}$ Y x $\frac{1}{2}$ L. ^{a-b} Diferentes letras indican diferencias entre líneas genéticas de verracos ^{a-d} Diferentes letras indican diferencias entre líneas genéticas de cerdas. $P < 0.05$.

Considerando las hembras, el cruce Y-L-50 produjo más lechones ($10,76 \pm 4,55$), lechones nacidos vivos ($9,64 \pm 4,30$) y número de momias ($0,35 \pm 0,75$) que las

demás líneas maternas ($P < 0,05$). A su vez, YLP-87.5 presentó la menor cantidad de lechones nacidos muertos ($0,55 \pm 1,00$) y el valor más bajo en número de momias ($0,22 \pm 0,51$) ($P < 0,05$). El cruce YLP-50 presentó la más baja fertilidad y mayor cantidad de lechones nacidos muertos ($1,13 \pm 1,08$). El peso de la camada al nacimiento fue más alto en YLP-75 ($P < 0,05$).

4.2.2. Estructura subpoblacional

Los resultados del análisis de componentes principales (PCs) permitieron identificar cinco componentes de los cuales el PC1 se encontró relacionado con la forma de la cabeza y fue representado por la elongación (0,980), elipticidad (0,980), longitud de la cabeza (0,610) y anchura de la cabeza en sentido opuesto (-0,732). El PC2 se basó en tamaño de la camada, siendo el número de lechones nacidos vivos (0,988), peso de la camada (0,959) y el lechones nacidos totales (0,948) las variables más relevantes. El tamaño de la cabeza constituyó el PC3, relacionado al área de la cabeza (0,980), perímetro (0,913) y longitud de la cabeza (0,661). La uniformidad fue asociada al PC4 y estuvo expresada por la regularidad (0,992). El PC5 se relacionó a la mortalidad de la camada y su relevancia fue dada por el número de lechones nacidos muertos (0,993). Estos componentes explican un 97,33 % de la varianza total.

A partir de las variables de morfometría y fertilidad se obtuvieron cuatro subpoblaciones (SPs), las cuales se describen de la siguiente forma: SP1 contó con el 27,24 % del total de células evaluadas, las cuales representaron el tamaño de cabeza más bajo y la fertilidad fue inferida como media (a partir de los valores de NT y NV). La SP2 estuvo compuesta por 30,96 % de los espermatozoides y estos tuvieron poca elipticidad, pero elevada anchura de la cabeza y un incremento en regularidad en conjunto con NT, NV y PL. El 13,00 % de los datos se ubicaron en la SP3 y presentaron los valores más elevados de NM y MM, con valores intermedios de tamaño y forma de la cabeza con respecto a las demás subpoblaciones, tal como lo indican los valores de área y elipticidad. La SP4 agrupó el 28,80 % del total de espermatozoides y se caracterizó por espermatozoides con mayor longitud, área y perímetro de la cabeza, pero presentaron pobre fertilidad como lo indican los valores

de NT y NV. Sin embargo, NM y MM fueron los más bajos indicando mejores características de desempeño prenatal (Cuadro 13).

Cuadro 13. Morfometría de la forma y tamaño de la cabeza y variables de fertilidad (media \pm DE) de las cuatro subpoblaciones (SPs) definidas por muestras seminales de verracos.

	SP ₁	SP ₂	SP ₃	SP ₄
Porcentaje de células (%)	27,24 %	30,96 %	13,00 %	28,80 %
Morfometría				
Longitud	8,62 \pm 0,50 ^{α}	8,62 \pm 0,49 ^{α}	8,78 \pm 0,54 ^{β}	8,98 \pm 0,56 ^{γ}
Anchura	4,29 \pm 0,15 ^{α}	4,66 \pm 0,16 ^{δ}	4,57 \pm 0,19 ^{γ}	4,54 \pm 0,19 ^{β}
Área	33,75 \pm 2,06 ^{α}	35,21 \pm 2,18 ^{β}	35,56 \pm 2,35 ^{γ}	36,16 \pm 2,47 ^{δ}
Perímetro	23,87 \pm 0,94 ^{α}	24,04 \pm 0,94 ^{β}	24,33 \pm 1,06 ^{γ}	24,71 \pm 1,14 ^{δ}
Elípticidad	2,02 \pm 0,13 ^{δ}	1,85 \pm 0,12 ^{α}	1,93 \pm 0,14 ^{β}	1,98 \pm 0,14 ^{γ}
Rugosidad	0,74 \pm 0,03 ^{α}	0,77 \pm 0,03 ^{α}	0,76 \pm 0,04 ^{α}	0,75 \pm 0,04 ^{α}
Elongación	0,34 \pm 0,03 ^{β}	0,30 \pm 0,03 ^{α}	0,32 \pm 0,03 ^{α}	0,33 \pm 0,03 ^{α}
Regularidad	0,86 \pm 0,03 ^{α}	0,90 \pm 0,04 ^{β}	0,89 \pm 0,04 ^{β}	0,89 \pm 0,04 ^{β}
Fertilidad				
NT	11,42 \pm 3,21 ^{b}	12,11 \pm 3,00 ^{c}	11,99 \pm 2,90 ^{c}	6,37 \pm 2,71 ^{a}
NV	10,57 \pm 2,97 ^{c}	11,38 \pm 2,77 ^{d}	8,65 \pm 3,20 ^{b}	5,98 \pm 2,55 ^{a}
NM	0,57 \pm 0,64 ^{c}	0,47 \pm 0,59 ^{b}	2,88 \pm 1,19 ^{d}	0,27 \pm 0,45 ^{a}
MM	0,28 \pm 0,62 ^{b}	0,27 \pm 0,59 ^{b}	0,46 \pm 0,84 ^{c}	0,12 \pm 0,34 ^{a}
PL	7,73 \pm 2,00 ^{c}	8,36 \pm 1,82 ^{d}	6,32 \pm 2,03 ^{b}	4,58 \pm 2,01 ^{a}

DE: desviación estándar. Número de células: 8000. Longitud [L, μm], Anchura [W, μm], Área [A, μm^2], Perímetro [P, μm], Elípticidad [L/W], Rugosidad [$4\pi A/P^2$], Elongación [(L – W)/(L + W)], Regularidad [$\pi LW/4A$]. NT: lechones nacidos totales, NV: lechones nacidos vivos, NM: lechones nacidos muertos, MM: número de momias, PL: peso de camada (kg). ^{α - β} Diferentes letras indican diferencias entre subpoblaciones para variables morfométricas. ^{a - d} Diferentes letras indican diferencias entre subpoblaciones para variables de fertilidad. P < 0.05.

4.2.3. Distribución de las subpoblaciones espermáticas

El análisis de la proporción de espermatozoides por cada subpoblación según la línea paterna y materna relevó diferencias ($P < 0,05$) en la distribución de células dentro de las subpoblaciones (Cuadro 14). Los espermatozoides se distribuyeron de manera desigual por subpoblación. En las líneas maternas, las subpoblaciones con mayor proporción de espermatozoides fueron asociadas a una línea genética en específico (YLP-50: SP1, 30,50 %; YLP-75: SP2, 32,30 %; YLP-87.5: SP4, 33,30 %). La distribución en Y-L-50 no mostró diferencias ($P > 0,05$) entre la SP1 (30,60 %) y SP2 (32,80 %); además, la SP3 presentó el valor más bajo con respecto a las demás subpoblaciones de Y-L-50 y YLP-87.5.

Cuadro 14. Porcentaje de espermatozoides de semen de verraco de dos líneas genéticas en cada subpoblación morfométrica caracterizada por dosis de IA usadas en cerdas.

Línea genética	SP ₁	SP ₂	SP ₃	SP ₄
Verraco				
Pietrain	35,80 ^α	27,30 ^β	6,10 ^γ	30,90 ^δ
Duroc x Pietrain	24,70 ^α	32,10 ^β	15,10 ^γ	28,20 ^δ
Cerde				
YLP-50	30,50 ^a	20,80 ^b	26,40 ^c	22,30 ^d
YLP-75	23,00 ^a	32,30 ^b	18,60 ^c	26,10 ^a
YLP-87.5	27,00 ^a	32,90 ^b	6,80 ^c	33,30 ^d
Y-L-50	30,60 ^a	32,80 ^a	9,40 ^b	27,20 ^c

Cada fila indica el porcentaje de espermatozoides en cada subpoblación espermática. Grupo; suma de porcentajes de cada línea de verraco = 100 y línea materna = 100. Número de células = 8000. Y: York, L: Landrace, P: Pietrain, YLP-50 = ($\frac{1}{4}$ Y x $\frac{1}{4}$ L x $\frac{1}{2}$ P), YLP-75 = ($\frac{1}{8}$ Y x $\frac{1}{8}$ L x $\frac{3}{4}$ P), YLP-87.5 = ($\frac{1}{16}$ Y x $\frac{1}{16}$ L x $\frac{7}{8}$ P), Y-L-50: $\frac{1}{2}$ Y x $\frac{1}{2}$ L. ^{α-β} Diferentes letras indican diferencias entre subpoblaciones por línea de verraco. ^{a-d} Diferentes letras indican diferencias entre subpoblaciones por línea materna. $P < 0.05$; prueba de chi cuadrado (χ^2), $P < 0,05$.

En los machos, la SP3 presentó los porcentajes más bajos para verracos Duroc x Pietrain y Pietrain (15,10 % y 6,10 % respectivamente), y los valores más altos se

presentaron en la SP2 para Duroc-Pietrain (32,10 %) y SP1 (35,80 %) para verracos Pietrain. Por otro lado, el análisis reveló diferencias ($P < 0,05$) entre machos y entre subpoblaciones de cada macho; sin embargo, generalmente la SP3 se mantuvo asociada a los porcentajes más bajos de células (Cuadro 15).

Cuadro 15. Porcentaje de espermatozoides en cada subpoblación morfométrica de semen de verracos de dos líneas genéticas.

	Subpoblación (% de espermatozoides)			
	SP ₁	SP ₂	SP ₃	SP ₄
1	39,80 ^{aa}	23,40 ^{baβ}	12,50 ^{ca}	24,40 ^{bcaβ}
2	45,80 ^{aβ}	14,10 ^{by}	5,60 ^{bβ}	34,50 ^{cy}
3	16,30 ^{ay}	51,80 ^{bδ}	3,00 ^{cy}	28,80 ^{dβδ}
4	11,00 ^{aδ}	27,50 ^{bβ}	31,50 ^{cδ}	29,90 ^{dδε}
5	37,70 ^{aa}	27,20 ^{bβ}	5,80 ^{cβ}	29,30 ^{dδ}
6	23,20 ^{aeζ}	51,60 ^{bδ}	0,00 ^{ce}	25,20 ^{aaβδ}
7	13,60 ^{ayδ}	54,50 ^{bδ}	16,70 ^{cζ}	15,20 ^{aζ}
8	36,40 ^{aa}	18,00 ^{bε}	5,60 ^{cβ}	40,10 ^{an}
9	25,50 ^{aζ}	36,70 ^{bζ}	9,90 ^{ca}	28,00 ^{aaβδ}
10	21,60 ^{aeζ}	31,80 ^{bη}	21,40 ^{cη}	25,20 ^{da}
11	20,80 ^{aeζ}	21,80 ^{aaβ}	23,80 ^{bη}	33,60 ^{cγε}

Cada fila indica el porcentaje de espermatozoides en cada subpoblación espermática. Número total de células por macho: macho 1 = 400, macho 2 = 1000, macho 3 = 600, macho 4 = 800, macho 5 = 800, macho 6 = 400, macho 7 = 800, macho 8 = 800, macho 9 = 600, macho 10 = 1000, macho 11 = 800. ^{a-d} Superíndice indica diferencias entre filas respecto a subpoblaciones espermáticas. ^{α-η} Superíndice indica diferencias entre columnas para cada verraco, prueba de chi cuadrado (χ^2), $P < 0,05$.

4.2.4. Análisis Bayesiano de relevancia morfométrica

Los datos del análisis Bayesiano demostraron que incluso cuando se presentaron diferencias ($P < 0,05$) con la estadística multivariada, al considerar la distribución marginal posterior, los resultados de contrastes de medias; entre subpoblaciones para variables de tamaño de la cabeza y de fertilidad asociada al tamaño de

camada; son considerados no relevantes. Los datos demostraron relevancia para los siguientes contrastes entre subpoblaciones: SP1-SP2, SP1-SP3, SP2-SP3 (para NT); SP1-SP2, SP1-SP3 (para NV); SP1-SP2-SP3 (para longitud de la cabeza); SP1-SP3-SP4, SP2-SP4 (para anchura de la cabeza); SP2-SP4 (para área de la cabeza); SP1-SP2, SP2-SP3 (para perímetro de la cabeza). Por lo tanto, aunque el tamaño de la camada presentó diferencias ($P < 0,05$) para las subpoblaciones SP1, SP2, SP3 y SP4, estas diferencias solamente fueron relevantes para SP1, SP2 y SP3 en el análisis Bayesiano. Por otro lado, los contrastes Bayesianos entre subpoblaciones no encontraron relevancia para el área y perímetro de la cabeza. A pesar que la SP2 fue diferente ($P < 0,05$) a la SP3, dicha diferencia debería considerarse no relevante según la probabilidad de relevancia Bayesiana (Cuadro 16).

Cuadro 16. Variables de fertilidad y morfometría y distribución marginal posterior estimada de diferencias entre subpoblaciones.

	Media \pm r.d.e	CV	D^1	HPD _{95%} ²	P_0 ³	P_R ⁴
Fertilidad						
NT	8,74 \pm 2,61	39,35				
SP ₁ -SP ₂			-0,47	-0,54, -0,39	1,00	1,00
SP ₁ -SP ₃			-0,37	-0,48, -0,27	1,00	1,00
SP ₁ -SP ₄			4,64	4,56, 4,72	1,00	0,00
SP ₂ -SP ₃			0,09	-0,01, 0,19	0,96	1,00
SP ₂ -SP ₄			5,11	5,03, 5,18	1,00	0,00
SP ₃ -SP ₄			5,01	4,91, 5,12	1,00	0,00
NV	7,47 \pm 2,50	40,33				
SP ₁ -SP ₂			-0,61	-0,68, -0,53	1,00	1,00
SP ₁ -SP ₃			1,72	1,62, 1,82	1,00	1,00
SP ₁ -SP ₄			4,26	4,18, 4,33	1,00	0,00
SP ₂ -SP ₃			2,33	2,22, 2,42	1,00	0,00
SP ₂ -SP ₄			4,87	4,80, 4,94	1,00	0,00
SP ₃ -SP ₄			2,54	2,44, 2,65	1,00	0,00

PL	5,64±1,72	37,59			
SP ₁ -SP ₂		-0,43	-0,48, -0,38	1,00	1,00
SP ₁ -SP ₃		1,47	1,40, 1,54	0,00	1,00
SP ₁ -SP ₄		2,97	2,92, 3,02	1,00	0,00
SP ₂ -SP ₃		1,89	1,82, 1,96	1,00	0,00
SP ₂ -SP ₄		3,39	3,34, 3,44	1,00	0,00
SP ₃ -SP ₄		1,50	1,43, 1,57	1,00	0,00
Tamaño de la cabeza					
Longitud	7,95±0,55	6,19			
SP ₁ -SP ₂		-0,01	-0,02, 0,01	0,81	1,00
SP ₁ -SP ₃		-0,16	-0,18, -0,13	1,00	0,98
SP ₁ -SP ₄		-0,33	-0,35, -0,32	1,00	0,00
SP ₂ -SP ₃		-0,15	-0,17, 0,13	1,00	1,00
SP ₂ -SP ₄		-0,33	-0,34, -0,31	1,00	0,00
SP ₃ -SP ₄		-0,18	-0,20, -0,16	1,00	0,56
Anchura	3,91±0,20	5,04			
SP ₁ -SP ₂		-0,07	-0,08, -0,07	1,00	0,98
SP ₁ -SP ₃		-0,03	-0,04, -0,02	1,00	1,00
SP ₁ -SP ₄		-0,04	-0,05, -0,04	1,00	1,00
SP ₂ -SP ₃		0,05	0,04, 0,05	1,00	0,00
SP ₂ -SP ₄		0,03	0,02, 0,04	1,00	1,00
SP ₃ -SP ₄		-0,02	-0,02, -0,01	1,00	1,00
Área	33,53±2,02	6,92			
SP ₁ -SP ₂		-1,13	-1,19, -1,07	1,00	0,00
SP ₁ -SP ₃		-1,40	-1,48, -1,32	1,00	0,00
SP ₁ -SP ₄		-2,23	-2,29, -2,16	1,00	0,00
SP ₂ -SP ₃		-0,27	-0,36, -0,20	1,00	1,00
SP ₂ -SP ₄		-1,10	-1,16, -1,04	1,00	0,00
SP ₃ -SP ₄		-0,82	-0,91, -0,74	1,00	0,37
Perímetro	23,20±0,97	4,40			

SP ₁ -SP ₂	-0,14	-0,16, -0,11	1,00	1,00
SP ₁ -SP ₃	-0,40	-0,44, -0,36	1,00	0,03
SP ₁ -SP ₄	-0,81	-0,84, -0,78	1,00	0,00
SP ₂ -SP ₃	-0,26	-0,30, -0,23	1,00	1,00
SP ₂ -SP ₄	-0,67	-0,70, -0,65	1,00	0,00
SP ₃ -SP ₄	-0,41	-0,45, -0,37	1,00	0,01

¹ D : media de la distribución posterior marginal de la diferencia entre SP₁, SP₂, SP₃ and SP₄, donde SP es una subpoblación de espermatozoides; ²HPD_{95%}, región de mayor densidad posterior al 95%; ³ P_0 , probabilidad de que la diferencia sea mayor que cero cuando $D > 0$ y la probabilidad de que la diferencia sea menor que cero cuando $D < 0$; R: valor relevante; ⁴ P_R , probabilidad de que la diferencia sea mayor que R cuando $D > 0$ y menor que R cuando $D < 0$. Número de células = 8000. r.d.e: desviación estándar residual. CV: coeficiente de variación (%). NT: lechones nacidos totales, NV: lechones nacidos vivos, NM: lechones nacidos muertos, MM: número de momias, PL: peso de camada (kg). Longitud [L, μm], Anchura [W, μm], Área [A, μm^2], Perímetro [P, μm].

5. DISCUSIÓN

5.1. Análisis de cinética espermática

El número de cerdas que pueden ser inseminadas a partir de un eyaculado depende de la concentración y la calidad del semen (Knox *et al.* 2017). Para evaluar la calidad seminal se pueden realizar análisis de microscopía de las muestras y esto permite maximizar el número de dosis por verraco (Valverde y Madrigal-Valverde 2019). Los criterios de selección de la línea genética o raza deben ser planteados en función de los objetivos de productividad de las granjas (Merks *et al.* 2000) y la calidad del semen (Morrell 2019) porque la fertilidad de las cerdas está relacionada con las características del semen como variables de cinética (Holt *et al.* 1997, Tremoen *et al.* 2018, Winters *et al.* 2018, Schulze *et al.* 2013, Broekhuijse *et al.* 2012), valores de morfometría (García-Herreros *et al.* 2006), fragmentación del ADN (Soler y Cooper 2016), concentración (Amann 1989) y viabilidad (Sutkeviciene *et al.* 2009). Los resultados del presente estudio presentaron una concentración promedio de $3,7 \times 10^9$ espermatozoides/ml. Un autor con datos similares explicó que una concentración $>3 \times 10^9$ espermatozoides/ml compensa la calidad seminal debido al gran número de espermatozoides que se pueden disponer por dosis de semen (Didion 2008).

El análisis multivariado proporcionó cuatro subpoblaciones, donde la SP1 tuvo eyaculados caracterizados por espermatozoides rápidos y progresivos y esta subpoblación se caracterizó por presentar eyaculados únicamente de verracos Duroc x Pietrain. Además, la SP4 estuvo mayormente integrada también por eyaculados de verracos Duroc x Pietrain y se caracterizó porque sus eyaculados presentaron espermatozoides cuyo movimiento fue lento y no progresivo. La mayor parte de los eyaculados de los verracos Pietrain se encontró en la SP3 y esta subpoblación tuvo eyaculados con espermatozoides que mostraron un movimiento lento pero progresivo. En la SP2, se encontraron eyaculados de ambas líneas paternas con una distribución uniforme, y se caracterizaron por poseer espermatozoides con una velocidad media y una movilidad lineal y progresiva.

Algunos autores afirman que la movilidad del espermatozoide podría no ser un buen predictor del tamaño de la camada (Tsakmakidis *et al.* 2010, Gadea 2005). Otros estudios son concomitantes respecto del efecto de la movilidad sobre la fertilidad del tamaño de camada, al indicar que cuando la movilidad total es mayor al 60 % y con una concentración del orden de 3×10^9 espermatozoides por ml, no hay relación con la fertilidad (Flowers 1997, Xu *et al.* 1998). Este estudio mostró que los verracos Duroc x Pietrain presentaron mejores patrones de movilidad total y movilidad progresiva que los machos Pietrain. Estos datos podrían indicar que los animales Duroc x Pietrain tendrán mejores datos de fertilidad y los resultados de NT muestran que este cruce presentó el valor más elevado y ese valor fue relevante según el análisis Bayesiano.

Diversos autores indican que los valores de cinética están relacionados con variables de fertilidad de la cerda como el tamaño de camada (Holt *et al.* 1997, Broekhuijse *et al.* 2012, Tremoen *et al.* 2018), la tasa de preñez (Schulze *et al.* 2013, Winters *et al.* 2018) o el índice de fertilidad (Winters *et al.* 2018). Las variables de cinética más relacionadas con la fertilidad son VSL (Holt *et al.* 1997, Broekhuijse *et al.* 2012), VCL (Broekhuijse *et al.* 2012, Tremoen *et al.* 2018, Winters *et al.* 2018) y BCF (Schulze *et al.* 2013, Broekhuijse *et al.* 2012, Winters *et al.* 2018). Los resultados demuestran que la SP1 tuvo los valores más altos de VCL y BCF, y valores intermedios de VSL.

Los análisis multivariados indicaron que la línea paterna no tuvo efecto ($P > 0,05$) sobre las variables de fertilidad de tamaño de camada. Esto fue corroborado mediante el análisis de contrastes Bayesiano donde además se determinó que las diferencias no fueron relevantes en ningún caso para las mismas variables de fertilidad. La no relevancia encontrada entre los grupos raciales de verracos podría explicarse porque los grupos (*cluster*) están muy cerca en distancia Euclídea respecto de los centroides y algunos eyaculados se asignaron a un grupo específico (subpoblación), pero mantienen algunos patrones de movilidad y/o cinética similares a los eyaculados de otra subpoblación.

La principal limitante para estimar la fertilidad del verraco es que se necesita un gran número de cerdas inseminadas durante un lapso amplio y eso implica una gran inversión de recursos e infraestructura y durante ese tiempo la fertilidad de los verracos puede verse afectada (Gadea 2005). El presente estudio determinó que el intervalo para el coeficiente de variación de la movilidad espermática se encontró entre 1,48 % a 24,26 % y para la movilidad progresiva estuvo entre 5,41 % a 37,69 %. Las diferencias inter verraco pueden ser debidas a la época, técnicas de procesamiento del semen, intervalo de recolección y edad de los animales (Parrilla *et al.* 2012, Zasiadczyk *et al.* 2015, Schulze *et al.* 2013).

Los eyaculados en el presente estudio mostraron diferencias intra e inter verraco, siendo posible describir tanto rápidos y progresivos como lentos y no progresivos; además, de otros patrones cinemáticos de movilidad y progresividad. Además, estos fueron agrupados en conglomerados para su descripción. Otros estudios han descrito subpoblaciones por espermatozoides a partir de las células directamente (Valverde *et al.* 2016, Amann y Hammerstedt 1993, Yániz *et al.* 2016, Flores *et al.* 2008, Gallego *et al.* 2015, Hirai *et al.* 2001, Soler *et al.* 2017, 2014, Vásquez *et al.* 2016, Yániz *et al.* 2018, Caldeira *et al.* 2019, Ramió *et al.* 2008, Thurston *et al.* 2001, Valverde *et al.* 2019); sin embargo, los autores han considerado que es más apropiado describirlos como eyaculados porque no se conoce con certeza cual espermatozoide fertilizó los ovocitos aportados por la cerda ni tampoco se puede precisar a qué subpoblación pertenecía esa célula.

La fertilidad es una característica multifactorial en donde el semen interviene directamente en el resultado final; pero la cerda se puede ver afectada por muchos factores exógenos y externos que pueden condicionar su desempeño fenotípico. Entre los principales factores que influyen la fertilidad de las cerdas están la temperatura (De Rensis *et al.* 2017), la condición de alojamiento (Jansen *et al.* 2007), el estado nutricional (De Rensis *et al.* 2017), la duración de la gestación (Oliviero *et al.* 2013), la actividad endocrina (De Rensis *et al.* 2017) y la vida productiva de la misma (Patterson y Foxcroft 2019).

En el presente trabajo se consideraron cuatro esquemas de cruzamiento maternos debido a que la habilidad materna puede influir en el desempeño fenotípico en las especies con camadas numerosas como el porcino (Canario *et al.* 2014, Yang *et al.* 2019, Wientjes *et al.* 2013). En el caso de los verracos se utilizaron dos grupos raciales debido a que la selección de verracos considera la tasa de crecimiento como objetivo de selección en cruces terminales (Safranski 2008, Chang *et al.* 2017, Do *et al.* 2013). Los resultados obtenidos indicaron que las cerdas de la línea materna Y-L-50 inseminadas con verracos Duroc x Pietrain presentaron mejores rendimientos de tamaño de camada; esto se explica debido al potencial genético aportado por la heterosis y complementariedad (Cassady *et al.* 2008).

No hubo diferencias ($P > 0,05$) entre líneas maternas para las variables de fertilidad, a pesar de que incluso esos valores presentaron un alto porcentaje de variación en comparación con Y-L-50. Además, la probabilidad de relevancia de esas diferencias analizada con el enfoque Bayesiano indicó que las diferencias fueron relevantes. Estos resultados sugieren que la importancia de estas diferencias en los cruces raciales está dada desde un punto de vista biológico y económico porque el mejoramiento genético de los caracteres de fertilidad ha sido utilizado en la selección de cerdas por habilidad materna y en verracos para aumentar el número de lechones vivos y la supervivencia prenatal (Knol *et al.* 2002).

La sobrevivencia prenatal de los cerdos es de gran importancia (Peltoniemi *et al.* 2016) y esto está relacionado con la calidad del ovocito (De Rensis *et al.* 2017), el cual está influenciado por la nutrición de la cerda (Patterson y Foxcroft 2019). Para explicar la relevancia de las diferencias entre subpoblaciones de acuerdo con los resultados del presente trabajo se obtuvo que el cruce YLP-87.5 presentó el valor más bajo de NM y MM, sin embargo, presentó un valor intermedio de NV incluso cuando mostró un valor bajo de NT. Por otro lado, las cerdas del cruce Y-L-50 presentaron el valor más alto de NT, aunque la mortalidad de lechones nacidos vivos (NM) fue mayor lo que repercute en sus valores bajos de NV.

Este estudio determina la probabilidad de relevancia de la distribución marginal posterior Bayesiana para confrontar estos hallazgos con la significancia ($P < 0,05$) de cada subpoblación compuesta de eyaculados de verraco y en algunos casos se indica que las diferencias entre subpoblaciones podrían considerarse irrelevantes. Otros trabajos realizados en otras especies como la bovina han descrito resultados que indican que las diferencias entre subpoblaciones espermáticas no son consideradas relevantes (Viquez *et al.* 2020). Por otro lado, las variables de fertilidad presentaron diferencias entre SP2-SP4, lo cual podría explicarse debido a los valores de las variables de velocidad espermática y a las relaciones de velocidad. En este sentido, la SP2 presentó los valores más altos en VSL, VAP, LIN, STR y WOB; mientras que la SP4 fue la subpoblación con los valores más bajos para las mismas variables descritas. Estos resultados plantean la necesidad de continuar los estudios sobre la estructura subpoblacional de los eyaculados porcinos y cómo estos intervienen en la funcionalidad de la fertilidad de las hembras.

5.2. Análisis morfométrico

La fertilidad se ve afectada multifactorialmente y en ella están involucradas las variables de los espermatozoides (Kölle *et al.* 2010). Además, se da una relación como es el caso de la movilidad espermática que se ve afectada por el tamaño y forma de la cabeza (Gillies *et al.* 2009), y esto afecta la capacidad fecundante (Górski *et al.* 2018). Los resultados indicaron que la movilidad de los machos Duroc x Pietrain fue mayor en comparación con los verracos Pietrain. La longitud de la cabeza del espermatozoide se correlaciona positivamente con la movilidad (Mossman *et al.* 2009) y se ha descrito una relación inversa entre la longitud del espermatozoide y el tiempo efectivo de mantenimiento de la movilidad y, por lo tanto, su capacidad para la fecundación del ovocito (Gomendio y Roldan 1993).

Las variables de morfometría espermática indican una relación con la concentración del eyaculado. Se observaron diferencias en el tamaño y forma de los espermatozoides entre eyaculados que demostraron diferencias en concentración espermática. Algunos autores indican que la proporción del tamaño de la cabeza de los espermatozoides fue mayor en los eyaculados con la

concentración más alta y la concentración más alta de esperma se ha asociado a las cabezas más estrechas y alargadas (Górski *et al.* 2018). Los resultados indican que las variables de tamaño de la cabeza del espermatozoide aumentaron al aumentar la concentración espermática. En otras especies, como el perro, se ha descrito que la concentración espermática puede influir en las dimensiones del tamaño de la cabeza (Rijsselaere *et al.* 2004).

Los resultados del presente estudio indican que la línea genética Duroc x Pietrain tuvo espermatozoides con cabeza más grande que los verracos Pietrain. Se han descrito resultados similares en espermatozoides de mayor longitud de cabeza, el área y el perímetro de verracos cruzados cuando se compararon con los verracos de raza pura (Wysokińska y Kondracki 2019). Este estudio reportó que los verracos con mayor tamaño de camada tenían espermatozoides significativamente menos elongados, sin embargo, la mortalidad embrionaria de los lechones fue mayor en estos machos. Esta observación se respalda con un trabajo previo en verracos Pietrain que sugirió que los verracos con alta fertilidad tenían la cabeza de los espermatozoides menos elongadas y significativamente más pequeñas que los verracos que tenían baja fertilidad (Hirai *et al.* 2001).

Aunque los parámetros morfométricos de la cabeza del esperma explicaron una variación en el tamaño de la camada de 7,7%, estos resultados se explican parcialmente por factores que afectan a la hembra (Quintero-Moreno *et al.* 2007).

La forma de la cabeza también puede afectar la hidrodinámica de los espermatozoides debido a que los espermatozoides con cabezas elongadas pueden moverse más rápido que aquellos con cabezas más elípticas (Malo *et al.* 2006). Algunos autores han descrito que los espermatozoides con valores de elipticidad más altos (longitud/ancho de la cabeza) presentan una progresividad más baja (Gil *et al.* 2009).

Estos resultados indican que hubo una mayor progresividad en los verracos Duroc x Pietrain que en los verracos Pietrain, pero no se encontraron diferencias entre la elipticidad de estas dos líneas machos. Se ha observado una correlación entre los espermatozoides morfológicamente normales y la reacción del acrosoma

más rápida que en otros tipos de espermatozoides, como los espermatozoides cónicos, grandes y pequeños. Por lo tanto, refleja la estrecha relación entre la estructura morfológica y su funcionalidad (Franken *et al.* 2009, Maroto-Morales *et al.* 2016).

El resultado de este trabajo indicó que el cruzamiento influyó en el tamaño de la cabeza y la forma de los espermatozoides de los verracos. Los eyaculados de la línea Pietrain tenían espermatozoides con cabezas más cortas y estrechas con un área y perímetro de cabeza más pequeños que los espermatozoides de la línea Duroc x Pietrain, indicando que pueden existir factores genéticos que modelan la forma y el tamaño de la cabeza del espermatozoide (Thurston *et al.* 2001, Saravia *et al.* 2007, Wysokińska y Kondracki 2019).

Si bien determinar biológicamente las diferencias morfométricas entre dos líneas masculinas es biológicamente notable, puede ser difícil aplicar mediciones morfométricas al semen de verraco utilizado en la evaluación de la fertilidad de las cerdas inseminadas artificialmente. En este estudio, esto fue más evidente cuando se revisó la morfometría de la forma de la cabeza; el tamaño y la forma de los espermatozoides afectan su función, como la reacción del acrosoma (Menkveld *et al.* 2003) y la zona de unión a la zona pelúcida del ovocito (García-Vázquez *et al.* 2016), lo que podría afectar la fertilidad potencial del macho (Menkveld 2010). El tamaño de la cabeza de los espermatozoides también se ha relacionado con la fertilidad; en consecuencia, la variabilidad en el tamaño de la cabeza se ha correlacionado con la variación en la estructura de la cromatina del núcleo celular (Sailer *et al.* 1996). Otros autores han mencionado que pequeñas variaciones en la forma de la cabeza de los espermatozoides se pueden asociar debido a cambios en la estructura de la cromatina en el núcleo de los espermatozoides, lo que puede resultar en una fertilidad reducida (Evenson y Wixon 2006).

Cuando se aplicó el análisis multivariado a los grupos de tamaño y forma de la cabeza de los espermatozoides y las variables de fertilidad, se generaron subpoblaciones discretas en función de cinco componentes principales. En el análisis de las subpoblaciones asociadas a las dimensiones de la cabeza del

espermatozoide, se encontraron diferencias significativas en los valores de longitud, ancho, área y perímetro entre las subpoblaciones de verracos Duroc x Pietrain y Pietrain. Las diferencias en las subpoblaciones se analizaron en todas las variables morfométricas de tamaño y forma de la cabeza del semen de verraco y las dosis de semen utilizadas en la IA. Se han descrito varios trabajos sobre la presencia de diferentes subpoblaciones dentro de un eyaculado (Holt y Van Look 2004, García-Molina *et al.* 2019, Caldeira *et al.* 2018, Valverde *et al.* 2019, Sadeghi *et al.* 2016, Valverde *et al.* 2019, 2016, Soler *et al.* 2017, Valverde *et al.* 2019). Estas subpoblaciones pueden verse afectadas por factores externos asociados con el semen como el tipo diluyente o la especie (Viquez *et al.* 2020).

Incluso, la distribución de las subpoblaciones de espermatozoides puede variar según el procedimiento estadístico multivariado utilizado (Ibanescu *et al.* 2020). En verracos se han encontrado diferentes subpoblaciones morfométricas y se clasificaron según el tamaño de la cabeza como espermatozoides grandes, pequeños, alargados y redondos, incluso, se sugirió que podría tener una participación funcional (Vicente-Fiel *et al.* 2013). Se han realizado estudios que asocian la morfometría de la cabeza del espermatozoide y las variables de fertilidad en varias especies (Marco-Jiménez *et al.* 2006, 2005, Hidalgo *et al.* 2007, Casey *et al.* 1997, Hirai *et al.* 2001) donde la fertilidad posterior se reduce con las variables de tamaño de cabeza más bajas.

Este estudio encontró que, en comparación con las líneas de machos, los verracos con el tamaño de la cabeza del espermatozoide menor generalmente tenían un tamaño de camada más alto. Los hallazgos se verificaron al analizar la subpoblación de espermatozoides en el eyaculado. Es posible que exista una estrategia evolutiva en la distribución de la subpoblación del semen en un eyaculado, sin embargo, la categorización en relación con el tamaño de la cabeza no parece tener mucho sentido. Las subpoblaciones espermáticas SP2 y SP3 presentaron variaciones menores entre sí que las subpoblaciones SP1 y SP4. Por lo tanto, hubo menos uniformidad con respecto a las variables de tamaño de la cabeza del espermatozoide entre SP1-SP4, lo que sugiere la idea de que posiblemente la

competencia de espermatozoides entre estas subpoblaciones respalde más, de alguna manera, niveles bajos de competencia de espermatozoides, lo que podría dar como resultado una mala calidad del semen como ha sido descrito en varios estudios sobre roedores (Varea-Sánchez *et al.* 2014, Thitipramote *et al.* 2011). El presente estudio determinó la probabilidad de relevancia de la distribución posterior marginal bayesiana para confrontar estos hallazgos con la significancia ($P < 0,05$) para cada subpoblación de espermatozoides y, en algunos casos, se indicó que las diferencias entre las subpoblaciones de espermatozoides podrían ser consideradas como irrelevantes.

6. CONCLUSIONES

Se demostró que el análisis cinético y morfométrico de los espermatozoides de verraco revela poblaciones separadas con diferentes patrones de movilidad y tamaño de la cabeza del espermatozoide. En el análisis de cinética espermática las diferencias entre las líneas maternas evaluadas fueron irrelevantes por los procedimientos multivariados. Sin embargo, al evaluar la relevancia de estas diferencias mediante el enfoque bayesiano, las diferencias de la línea materna fueron relevantes y asumimos que esas diferencias son de importancia económica y biológica para los sistemas de producción porcina.

En el análisis morfométrico existen diferencias en la morfología de la cabeza de los espermatozoides entre las líneas paternas de verracos y entre los animales evaluados dentro de la línea. Las diferencias entre las subpoblaciones se muestran para los rasgos de fertilidad y el tamaño de la cabeza del espermatozoide. Sin embargo, al evaluar la relevancia de estas diferencias por contraste bayesiano, en algunos casos las diferencias de SP son irrelevantes, incluso, biológicamente.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Amann, R. 1989. Seminal Can Sample the Fertility Be Predicted Potential of a Accurately? *Journal of andrology* 10(2):89-98.
- Amann, RP; Hammerstedt, RH. 1993. In Vitro Evaluation of Sperm Quality: An Opinion. *Journal of Andrology* 14(6):397-406. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.1993.tb03247.x>.
- Amann, RP; Saacke, RG; Barbato, GF; Waberski, D. 2018. Measuring Male-to-Male Differences in Fertility or Effects of Semen Treatments. *Annual Review of Animal Biosciences* 6(1):255-286. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-030117-014829>.
- Amann, RP; Waberski, D. 2014. Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments. s.l., Elsevier Inc., vol.81. p. 5-17.e3 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.004>.
- Bielas, W; Nizański, W; Partyka, A; Rzasa, A; Mordak, R. 2017. Effect of long-term storage in Safe Cell+ extender on boar sperm DNA integrity and other key sperm parameters. *Acta Veterinaria Scandinavica* 59(1). DOI: <https://doi.org/10.1186/s13028-017-0325-9>.
- Boe-Hansen, GB; Satake, N. 2019. An update on boar semen assessments by flow cytometry and CASA. s.l., Elsevier Inc. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.05.043>.
- Bompart, D; García-Molina, A; Valverde, A; Caldeira, C; Yániz, J; Núñez De Murga, M; Soler, C. 2018. CASA-Mot technology: How results are affected by the frame rate and counting chamber. *Reproduction, Fertility and Development* 30(6):810-819. DOI: <https://doi.org/10.1071/RD17551>.
- Broekhuijse, MLWJ; Šoštarić, E; Feitsma, H; Gadella, BM. 2012. Application of computer-assisted semen analysis to explain variations in pig fertility. *Journal of Animal Science* 90(3):779-789. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4311>.
- Caldeira, C; García-Molina, A; Valverde, A; Bompart, D; Hassane, M; Martin, P; Soler,

- C. 2018. Comparison of sperm motility subpopulation structure among wild anadromous and farmed male Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr using a CASA system. *Reproduction, Fertility and Development* 30(6):897-906. DOI: <https://doi.org/10.1071/RD17466>.
- Caldeira, C; Hernández-Ibáñez, S; Valverde, A; Martin, P; Herranz-Jusado, JG; Gallego, V; Asturiano, JF; Dzyuba, B; Pšenička, M; Soler, C. 2019. Standardization of sperm motility analysis by using CASA-Mot for Atlantic salmon (*Salmo salar*), European eel (*Anguilla anguilla*) and Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Aquaculture* 502:223-231. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.001>.
- Canario, L; Bidanel, JP; Rydhmer, L. 2014. Genetic trends in maternal and neonatal behaviors and their association with perinatal survival in french large white swine. *Frontiers in Genetics* 5(DEC). DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00410>.
- Casey, PJ; Gravance, CG; Davis, RO; Chabot, DD; Liu, IKM. 1997. Morphometric differences in sperm head dimensions of fertile and subfertile stallions. *Theriogenology* 47(2):575-582. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(97\)00015-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00015-0).
- Cassady, JP; Young, LD; Leymaster, KA. (2008). Heterosis and recombination effects on pig reproductive traits (en línea). 80. s.l., s.e. Consultado 12 jul. 2020. Disponible en <http://jas.fass.org/cgi/content/full/80/9/2303>.
- Chandler, JE; Painter, CL; Adkison, RW; Memon, MA; Hoyt, PG. 1988. Semen Quality Characteristics of Dairy Goats. *Journal of Dairy Science* 71(6):1638-1646. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(88\)79728-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79728-3).
- Chang, H-L; Lai, Y-Y; Wu, M-C; Sasaki, O. 2017. Genetic correlations between male reproductive traits and growth traits in growth performance tested Duroc, Landrace and Yorkshire breed boars. *Animal Science Journal* 88(9):1258-1268. DOI: <https://doi.org/10.1111/asj.12776>.
- Cucho, H; López, Y; Caldeira, C; Valverde, A; Ordóñez, C; Soler, C. 2019.

- Comparison of three different staining methods for the morphometric characterization of Alpaca (*Vicugna pacos*) sperm, using ISAS® CASA-Morph system. *Nova Biologica Reperta* 6(3):284-291. DOI: <https://doi.org/10.29252/nbr.6.3.284>.
- Didion, BA. 2008. Computer-assisted semen analysis and its utility for profiling boar semen samples. *Theriogenology* . DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.07.014>.
- Do, DN; Strathe, AB; Jensen, J; Mark, T; Kadarmideen, HN. 2013. Genetic parameters for different measures of feed efficiency and related traits in boars of three pig breeds¹. *Journal of Animal Science* 91(9):4069-4079. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2012-6197>.
- Evenson, DP; Wixon, R. 2006. Clinical aspects of sperm DNA fragmentation detection and male infertility. *In Theriogenology*. s.l., Elsevier Inc. p. 979-991 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.011>.
- Fair, S; Romero-Aguirregomez-corta, J. 2019. Implications of boar sperm kinematics and rheotaxis for fertility after preservation. s.l., Elsevier Inc. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.05.032>.
- Flores, E; Taberner, E; Rivera, MM; Peña, A; Rigau, T; Miró, J; Rodríguez-Gil, JE. 2008. Effects of freezing/thawing on motile sperm subpopulations of boar and donkey ejaculates (en línea). *Theriogenology* 70(6):936-945. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.056>.
- Flowers, WL. 1997. Management of boars for efficient semen production. s.l., s.e.
- Franken, DR; Bastiaan, HS; Kidson, A; Wranz, P; Habenicht, U-F. 2009. Zona pellucida mediated acrosome reaction and sperm morphology. *Andrologia* 29(6):311-317. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1997.tb00324.x>.
- Gadea, J. 2001. La evaluación de la capacidad fecundante de los espermatozoides porcinos mediante la fecundación in vitro (Revision) . *Invest. Agr.:Prod. Sanid. Anim.* 16(1):63-77.

- Gadea, J. 2005. Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility. *In* Theriogenology. s.l., s.e. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.09.023>.
- Gallego, V; Vílchez, MC; Peñaranda, DS; Pérez, L; Herráez, MP; Asturiano, JF; Martínez-Pastor, F. 2015. Subpopulation pattern of eel spermatozoa is affected by post-activation time, hormonal treatment and the thermal regimen (en línea). *Reproduction, Fertility and Development* 27(3):529-543. DOI: <https://doi.org/10.1071/RD13198>.
- García-Herreros, M; Aparicio, IM; Barón, FJ; García-Marín, LJ; Gil, MC. 2006. Standardization of sample preparation, staining and sampling methods for automated sperm head morphometry analysis of boar spermatozoa. *International Journal of Andrology* 29(5):553-563. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2006.00696.x>.
- García-Molina, A; Valverde, A; Bompart, D; Caldeira, C; Vendrell, A; Soler, C. 2019. Updating semen analysis: a subpopulation approach. *Asian journal of andrology* 22(1):118-119. DOI: https://doi.org/10.4103/aja.aja_33_19.
- García-Vázquez, F; Gadea, J; Matás, C; Holt, W. 2016. Importance of sperm morphology during sperm transport and fertilization in mammals. *Asian Journal of Andrology* . DOI: <https://doi.org/10.4103/1008-682X.186880>.
- Geyer, C. 1992. Practical Markov Chain Monte Carlo. *Statistical Science* 7(4):473-483. DOI: <https://doi.org/10.1214/SS/1177011137>.
- Gil, MC; García-Herreros, M; Barón, FJ; Aparicio, IM; Santos, AJ; García-Marín, LJ. 2009. Morphometry of porcine spermatozoa and its functional significance in relation with the motility parameters in fresh semen. *Theriogenology* 71(2):254-263. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.07.007>.
- Gillies, EA; Cannon, RM; Green, RB; Pacey, AA. 2009. Hydrodynamic propulsion of human sperm. *Journal of Fluid Mechanics* 625:445-474. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0022112008005685>.

- Gomendio, M; Roldan, ERS. 1993. Coevolution between Male Ejaculates and Female Reproductive Biology in Eutherian Mammals. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 252(1333):7-12. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.1993.0039>.
- Górski, K; Kondracki, S; Wysokińska, A; Iwanina, M. 2018. Dependence of sperm morphology and ejaculate characteristics on sperm concentration in the ejaculates of Hypor boars. *Journal of Veterinary Research (Poland)* 62(3):353-357. DOI: <https://doi.org/10.2478/jvetres-2018-0050>.
- Hernández-Caravaca, I; Izquierdo-Rico, MJ; Matás, C; Carvajal, JA; Vieira, L; Abril, D; Soriano-úbeda, C; García-Vázquez, FA. 2012. Reproductive performance and backflow study in cervical and post-cervical artificial insemination in sows (en línea). *Animal Reproduction Science* 136(1-2):14-22. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.10.007>.
- Hidalgo, M; Rodríguez, I; Dorado, JM. 2007. The effect of cryopreservation on sperm head morphometry in Florida male goat related to sperm freezability. *Animal Reproduction Science* 100(1-2):61-72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.07.003>.
- Hirai, M; Boersma, A; Hoefflich, A; Wolf, E; Föll, J; Aumüller, R; Braun, J. 2001. Objectively measured sperm motility and sperm head morphometry in boars (*Sus scrofa*): Relation to fertility and seminal plasma growth factors. *Journal of Andrology* 22(1):104-110. DOI: <https://doi.org/10.1067/mnc.2000.109027>.
- Holt, C; Holt, W V.; Moore, HDM; Reed, HCB; Curnock, RM. 1997. Objectively measured boar sperm motility parameters correlate with the outcomes of on-farm inseminations: Results of two fertility trials. *Journal of Andrology* 18(3):312-323. DOI: <https://doi.org/10.1002/J.1939-4640.1997.TB01925.X>.
- Holt, W; Van Look, K. 2004. Concepts in sperm heterogeneity, sperm selection and sperm competition as biological foundations for laboratory tests of semen quality. *Reproduction* 127(5):527-535. DOI: <https://doi.org/10.1530/rep.1.00134>.

- Hoy, S; Bauer, J; Borberg, C; Chonsch, L; Weirich, C. 2009. Impact of rank position on fertility of sows (en línea). *Livestock Science* 126(1-3):69-72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.05.018>.
- Ibanescu, I; Siuda, M; Bollwein, H. 2020. Motile sperm subpopulations in bull semen using different clustering approaches – Associations with flow cytometric sperm characteristics and fertility. *Animal Reproduction Science* 215:106329. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106329>.
- INEC. (2019). Encuesta Nacional Agropecuaria 2017 RESULTADOS GENERALES DE LAS ACTIVIDADES GANADERAS VACUNA Y PORCINA (en línea). s.l., s.e. Consultado 21 sep. 2019. Disponible en <http://www.inec.go.cr/sites/default/files/documentos-biblioteca-virtual/reena2017.pdf>.
- Jansen, J; Kirkwood, RN; Zanella, AJ; Tempelman, RJ. 2007. Influence of gestation housing on sow behavior and fertility (en línea). *Journal of Swine Health and Production* 15(3):132-136. Consultado 8 jul. 2020. Disponible en <http://hdl.handle.net/2066/56272>.
- Johnson, LA; Weitze, KF; Fiser, P; Maxwell, WMC. 2000. Storage of boar semen. *Animal Reproduction Science* 62(1-3):143-172. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00157-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00157-3).
- Kaiser, HF. 1958. The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. *Psychometrika* 23(3):187-200. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02289233>.
- Katz, DF; Dott, HM. 1975. Methods of measuring swimming speed of spermatozoa. *Journal of Reproduction and Fertility* 45(2):263-272. DOI: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0450263>.
- Kaufman, L; Rousseeuw, P. 2005. Finding groups in data : an introduction to cluster analysis. New Jersey, USA, Wiley. 342 p. DOI: <https://doi.org/10.1002/9780470316801>.
- Kaufman, L; Rousseeuw, PJ. 1991. Finding Groups in Data: An Introduction to Cluster

- Analysis. (en línea). Biometrics 47(2):788. DOI: <https://doi.org/10.2307/2532178>.
- Kime, DE; Van Look, KJW; McAllister, BG; Huyskens, G; Rurangwa, E; Ollevier, F. 2001. Computer-assisted sperm analysis (CASA) as a tool for monitoring sperm quality in fish. *In Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*. s.l., Elsevier Inc. p. 425-433 DOI: [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(01\)00270-8](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(01)00270-8).
- Knol, EF; Leenhouwers, JI; Van der Lende, T. 2002. Genetic aspects of piglet survival. *Livestock Production Science* 78(1):47-55. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(02\)00184-7](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00184-7).
- Knox, R V. 2016. Artificial insemination in pigs today. *Theriogenology* 85(1):83-93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.07.009>.
- Knox, R V.; Esparza-Harris, KC; Johnston, ME; Webel, SK. 2017. Effect of numbers of sperm and timing of a single, post-cervical insemination on the fertility of weaned sows treated with OvuGel ®. *Theriogenology* 92:197-203. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.01.033>.
- Kölle, S; Reese, S; Kummer, W. 2010. New aspects of gamete transport, fertilization, and embryonic development in the oviduct gained by means of live cell imaging. s.l., Elsevier, vol.73. p. 786-795 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.11.002>.
- Li, Q; Shaoyong, W; Li, Y; Chen, M; Hu, YM; Liu, B; Yang, GS; Hu, JH. 2018. Effects of oligomeric proanthocyanidins on quality of boar semen during liquid preservation at 17 °C. *Animal Reproduction Science* 198:47-56. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.08.047>.
- Llamas-López, PJ; López-Úbeda, R; López, G; Antinoja, E; García-Vázquez, FA. 2019. A new device for deep cervical artificial insemination in gilts reduces the number of sperm per dose without impairing final reproductive performance. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 10(1):1-9. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0313-1>.

- Lu, JC; Huang, YF; Lü, NQ. 2014. Computer-aided sperm analysis: Past, present and future. *Andrologia* 46(4):329-338. DOI: <https://doi.org/10.1111/and.12093>.
- Malo, AF; Gomendio, M; Garde, J; Lang-Lenton, B; Soler, A; Roldan, ERS. 2006. Sperm design and sperm function. *Biology Letters* 2(2):246-249. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2006.0449>.
- Marco-Jiménez, F; Balasch, S; Vicente, JS; Lavara, R; Viudes-De-Castro, MP; Mocé, E. 2005. Detection of sub-fertile rabbits by means of sperm head morphometric analysis. *Impreso* :80-80.
- Marco-Jiménez, F; Viudes-De-Castro, MP; Balasch, S; Mocé, E; Silvestre, MA; Gomez, EA; Vicente, JS. 2006. Morphometric changes in goat sperm heads induced by cryopreservation. *Cryobiology* 52(2):295-304. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2006.01.002>.
- Maroto-Morales, A; García-Álvarez, O; Ramón, M; Martínez-Pastor, F; Fernández-Santos, MR; Soler, A; Garde, JJ. 2016. Current status and potential of morphometric sperm analysis. *Asian journal of andrology* 18(6):863-870. DOI: <https://doi.org/10.4103/1008-682X.187581>.
- Menkveld, R. 2010. Clinical significance of the low normal sperm morphology value as proposed in the fifth edition of the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. s.l., Wolters Kluwer -- Medknow Publications, vol.12. p. 47-58 DOI: <https://doi.org/10.1038/aja.2009.14>.
- Menkveld, R; El-Garem, Y; Schill, WB; Henkel, R. 2003. Relationship between Human Sperm Morphology and Acrosomal Function. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 20(10):432-438. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1026288710638>.
- Merks, J; Ducro-Steverink, D; Feitsma, H. 2000. Management and genetic factors affecting fertility in sows. *Reproduction in Domestic Animals* 35(6):261-266. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2000.00269.x>.
- Morrell, JM. 2019. Effect of colloid centrifugation on boar sperm quality during storage

- and function in in vitro fertilization. s.l., Elsevier Inc. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.05.046>.
- Mortimer, D; Mortimer, ST. 2013. Computer-Aided Sperm Analysis (CASA) of Sperm Motility and Hyperactivation (en línea). s.l., s.e. p. 77-87 DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-62703-038-0_8.
- Mortimer, ST. 2000. CASA - Practical aspects. *Journal of Andrology* 21(4):515-524.
- Mortimer, ST; De Jonge, CJ. 2018. CASA—Computer-Aided Sperm Analysis. s.l., Elsevier. p. 59-63 DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.64935-8>.
- Mossman, J; Slate, J; Humphries, S; Birkhead, T. 2009. Sperm morphology and velocity are genetically codetermined in the Zebra finch. *Evolution* 63(10):2730-2737. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00753.x>.
- Murtagh, F; Legendre, P. 2014. Ward's Hierarchical Agglomerative Clustering Method: Which Algorithms Implement Ward's Criterion? *Journal of Classification* 31(3):274-295. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00357-014-9161-z>.
- Ngula, J; Manjarín, R; Martínez-Pastor, F; Alegre, B; Tejedor, I; Brown, T; Piñán, J; Kirkwood, RN; Domínguez, JC. 2019. A novel semen supplement (SuinFort) improves sow fertility after artificial insemination (en línea). *Animal Reproduction Science* 210(November 2018):106193. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106193>.
- Oliviero, C; Kothe, S; Heinonen, M; Valros, A; Peltoniemi, O. 2013. Prolonged duration of farrowing is associated with subsequent decreased fertility in sows (en línea). *Theriogenology* 79(7):1095-1099. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.02.005>.
- Palacín, I; Vicente-Fiel, S; Santolaria, P; Yániz, JL. 2013. Standardization of CASA sperm motility assessment in the ram. *Small Ruminant Research* 112(1-3):128-135. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.12.014>.
- Parrilla, I; del Olmo, D; Sijes, L; Martinez-Alborcia, MJ; Cuello, C; Vazquez, JM; Martinez, EA; Roca, J. 2012. Differences in the ability of spermatozoa from

- individual boar ejaculates to withstand different semen-processing techniques. *Animal Reproduction Science* . DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.04.003>.
- Parrilla, I; Perez-Patiño, C; Li, J; Barranco, I; Padilla, L; Rodriguez-Martinez, H; Martinez, EA; Roca, J. 2019. Boar semen proteomics and sperm preservation. s.l., Elsevier Inc. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.05.033>.
- Patterson, J; Foxcroft, G. 2019. Gilt management for fertility and longevity. s.l., MDPI AG, vol.9. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani9070434>.
- Peltoniemi, OAT; Björkman, S; Oliviero, C. 2016. Parturition effects on reproductive health in the gilt and sow. s.l., Blackwell Publishing Ltd, vol.51. p. 36-47 DOI: <https://doi.org/10.1111/rda.12798>.
- Petrocelli, H; Pérez-Clariget, R; Franco, J; Haretche, J; Burgeño, J; López, A. 2003. Efecto De La Raza , Mes De Colección Y De Servicio Sobre La Calidad Seminal De Verracos Y Desempeño Al Parto De Cerdas Inseminadas Artificialmente. *Agrociencia* 7(2):63-70.
- Pipan, MZ; Mrkun, J; Strajn, BJ; Vrtač, KP; Kos, J; Pišlar, A; Zrimšek, P. 2017. The influence of macro- and microelements in seminal plasma on diluted boar sperm quality. *Acta Veterinaria Scandinavica* 59(1). DOI: <https://doi.org/10.1186/s13028-017-0279-y>.
- Quintero-Moreno, A; Rigau, T; Rodríguez-Gil, J. 2007. Multivariate Cluster Analysis Regression Procedures as Tools to Identify Motile Sperm Subpopulations in Rabbit Semen and to Predict Semen Fertility and Litter Size. *Reproduction in Domestic Animals* 42(3):312-319. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00785.x>.
- Quirós-Rojas, M; Madrigal-Valverde, M; Camacho-Calvo, M; Valverde, A. 2018. Efecto del catéter de inseminación y el orden de parto sobre parámetros de producción en ganado porcino. *Revista Tecnología en Marcha* 31(3). DOI: <https://doi.org/10.18845/tm.v31i3.3905>.

- Ramió, L; Rivera, MM; Ramírez, A; Concha, II; Peña, A; Rigau, T; Rodríguez-Gil, JE. 2008. Dynamics of motile-sperm subpopulation structure in boar ejaculates subjected to «in vitro» capacitation and further «in vitro» acrosome reaction. *Theriogenology* 69(4):501-512. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.10.021>.
- De Rensis, F; Kirkwood, RN. 2016. Control of estrus and ovulation: Fertility to timed insemination of gilts and sows. s.l., Elsevier Inc., vol.86. p. 1460-1466 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.04.089>.
- De Rensis, F; Ziecik, AJ; Kirkwood, RN. 2017. Seasonal infertility in gilts and sows: Aetiology, clinical implications and treatments (en línea). *Theriogenology* 96:111-117. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.04.004>.
- Rijsselaere, T; Soom, A; Hoflack, G; Meas, D; Kruif, A. 2004. Automated sperm morphometry and morphology analysis of canine semen by the Hamilton-Thorne analyser. *Theriogenology* 62:1292-1306.
- Sadeghi, S; García-Molina, A; Celma, F; Valverde, A; Fereidounfar, S; Soler, C. 2016. Morphometric comparison by the ISAS® CASA-DNAf system of two techniques for the evaluation of DNA fragmentation in human spermatozoa. *Asian Journal of Andrology* 18(6):835-839. DOI: <https://doi.org/10.4103/1008-682X.186875>.
- Safranski, TJ. 2008. Genetic selection of boars. *Theriogenology* 70(8):1310-1316. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.06.020>.
- Sailer, BL; Jost, LK; Evenson, DP. 1996. Bull sperm head morphometry related to abnormal chromatin structure and fertility. *Cytometry* 24(2):167-173. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0320\(19960601\)24:2<167::AID-CYTO9>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0320(19960601)24:2<167::AID-CYTO9>3.0.CO;2-G).
- Saravia, F; Núñez-Martínez, I; Morán, JM; Soler, C; Muriel, A; Rodríguez-Martínez, H; Peña, FJ. 2007. Differences in boar sperm head shape and dimensions recorded by computer-assisted sperm morphometry are not related to chromatin integrity. *Theriogenology* 68(2):196-203. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.052>.

- SAS. 2013. The SAS system for Windows. Cary, NC, USA, SAS Institute Inc.
- Schulze, M; Ruediger, K; Mueller, K; Jung, M; Well, C; Reissmann, M. 2013. Development of an in vitro index to characterize fertilizing capacity of boar ejaculates. *Animal Reproduction Science* 140(1-2):70-76. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.05.012>.
- Seyfang, J; Langendijk, P; Chen, TY; Bouwman, E; Kirkwood, RN. 2016. Human chorionic gonadotrophin in early gestation induces growth of estrogenic ovarian follicles and improves primiparous sow fertility during summer. *Animal Reproduction Science* 172:21-25. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.06.009>.
- Soler, C; Contell, J; Bori, L; Sancho, M; García-Molina, A; Valverde, A; Segarvall, J. 2017. Sperm kinematic, head morphometric and kinetic-morphometric subpopulations in the blue fox (*Alopex lagopus*) (en línea). *Asian Journal of Andrology* 19(2):154-159. DOI: <https://doi.org/10.4103/1008-682X.188445>.
- Soler, C; Cooper, T. 2016. Afterword to Sperm morphometrics today and tomorrow special issue in *Asian Journal of Andrology*. *Asian Journal of Andrology* 18(6):895-897. DOI: <https://doi.org/10.4103/1008-682X.188451>.
- Soler, C; Gadea, B; Soler, AJ; Fernández-Santos, MR; Estes, MC; Núñez, J; Moreira, PN; Núñez, M; Gutiérrez, R; Sancho, M; Garde, JJ. 2005. Comparison of three different staining methods for the assessment of epididymal red deer sperm morphometry by computerized analysis with ISAS®. *Theriogenology* 64(5):1236-1243. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.02.018>.
- Soler, C; García, A; Contell, J; Segarvall, J; Sancho, M. 2014. Kinematics and subpopulations' structure definition of blue fox (*alopex lagopus*) sperm motility using the ISAS® V1 CASA system. *Reproduction in Domestic Animals* 49(4):560-567. DOI: <https://doi.org/10.1111/rda.12310>.
- Sorensen, D; Gianola, D. 2002. Likelihood, Bayesian, and MCMC Methods in Quantitative Genetics. New York, NY, Springer New York, (Statistics for Biology and Health). DOI: <https://doi.org/10.1007/b98952>.

- Spencer, NH. 2013. Essentials of multivariate data analysis. New York, NY, USA, s.e. 1-165 p. DOI: <https://doi.org/10.1201/b16344>.
- Sutkeviciene, N; Riskeviciene, V; Januskauskas, A; Zilinskas, H; Andersson, M. 2009. Assessment of sperm quality traits in relation to fertility in boar semen. *Acta veterinaria Scandinavica* 51(December):53. DOI: <https://doi.org/10.1186/1751-0147-51-53>.
- Thitipramote, N; Suwanjarat, J; Leigh, C; Breed, WG. 2011. Variation in sperm morphology of a murine rodent from South-East Asia: the Greater Bandicoot Rat, *Bandicota indica*. *Acta Zoologica* 92(3):201-205. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.2010.00453.x>.
- Thurston, LM; Watson, PF; Mileham, AJ; Holt, W V. 2001. Morphologically distinct sperm subpopulations defined by fourier shape descriptors in fresh ejaculates correlate with variation in boar semen quality following cryopreservation. *Journal of Andrology* 22(3):382-394.
- Tremoen, NH; Gaustad, AH; Andersen-Ranberg, I; van Son, M; Zeremichael, TT; Frydenlund, K; Grindflek, E; Våge, DI; Myromslien, FD. 2018. Relationship between sperm motility characteristics and ATP concentrations, and association with fertility in two different pig breeds. *Animal Reproduction Science* 193:226-234. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.04.075>.
- Tsakmakidis, IA; Lymberopoulos, AG; Khalifa, TAA. 2010. Relationship between sperm quality traits and field-fertility of porcine semen. *Journal of Veterinary Science* 11(1):151-154. DOI: <https://doi.org/10.4142/jvs.2010.11.2.151>.
- Ulguim, RR; Bortolozzo, FP; Wentz, I; Johnston, M; Webel, SK; Arend, L; Knox, R V. 2018. Ovulation and fertility responses for sows receiving once daily boar exposure after weaning and OvuGel® followed by a single fixed time post cervical artificial insemination. *Theriogenology* 105:27-33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.09.005>.
- Valverde, A; Arenán, H; Sancho, M; Contell, J; Yániz, J; Fernández, A; Soler, C. 2016. Morphometry and subpopulation structure of Holstein bull spermatozoa:

- Variations in ejaculates and cryopreservation straws. *Asian Journal of Andrology* 18(6):851-857. DOI: <https://doi.org/10.4103/1008-682X.187579>.
- Valverde, A; Castro-Morales, O; Madrigal-Valverde, M; Soler, C. 2019. Sperm kinematics and morphometric subpopulations analysis with CASA systems: A review. *Revista de Biología Tropical* 67(6):1473-1487. DOI: <https://doi.org/10.15517/rbt.v67i6.35151>.
- Valverde, A; Madrigal-Valverde, M. 2018. Sistemas de análisis computadorizado de semen en la reproducción animal. *Agronomía Mesoamericana* 29(2):449. DOI: <https://doi.org/10.15517/ma.v29i2.29852>.
- _____. 2019. Evaluación de cámaras de recuento sobre parámetros espermáticos de verracos analizados con un sistema CASA-Mot (en línea). *Agronomía Mesoamericana* 30(2):447-458. DOI: <https://doi.org/10.15517/am.v30i1.34145>.
- Valverde, A; Madrigal-Valverde, M; Castro-Morales, O; Gadea-Rivas, A; Johnston, S; Soler, C. 2019. Kinematic and head morphometric characterisation of spermatozoa from the Brown Caiman (*Caiman crocodilus fuscus*). *Animal Reproduction Science* 207:9-20. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.06.011>.
- Valverde, A; Madrigal-Valverde, M; Lotz, J; Bompert, D; Soler, C. 2019. Effect of video capture time on sperm kinematic parameters in breeding boars. *Livestock Science* 220:52-56. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.12.008>.
- Valverde, A; Madrigal, M; Caldeira, C; Bompert, D; de Murga, JN; Arnau, S; Soler, C. 2019. Effect of frame rate capture frequency on sperm kinematic parameters and subpopulation structure definition in boars, analysed with a CASA-Mot system. *Reproduction in Domestic Animals* 54(2):167-175. DOI: <https://doi.org/10.1111/rda.13320>.
- Valverde, A; Soler, C; Madrigal-Valverde, M. 2017. Los sistemas CASA como solución en los centros de producción de dosis seminales porcinas. *80(433):74-80*.

- Varea-Sánchez, M; Gómez Montoto, L; Tourmente, M; Roldan, ERS. 2014. Postcopulatory Sexual Selection Results in Spermatozoa with More Uniform Head and Flagellum Sizes in Rodents. PLoS ONE 9(9):e108148. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108148>.
- Vásquez, F; Soler, C; Camps, P; Valverde, A; García-Molina, A. 2016. Spermogram and sperm head morphometry assessed by multivariate cluster analysis results during adolescence (12-18 years) and the effect of varicocele (en línea). Asian Journal of Andrology 18(6):824-830. DOI: <https://doi.org/10.4103/1008-682X.186873>.
- Vazquez, JM JL; Martinez, EA; Roca, J; Gil, MA; Parrilla, I; Cuello, C; Carvajal, G; Lucas, X; Vazquez, JM JL. 2005. Improving the efficiency of sperm technologies in pigs: The value of deep intrauterine insemination (en línea). Theriogenology 63(2 SPEC. ISS.):536-547. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.09.043>.
- Vicente-Fiel, S; Palacín, I; Santolaria, P; Hidalgo, CO; Silvestre, MA; Arrebola, F; Yániz, JL. 2013. A comparative study of the sperm nuclear morphometry in cattle, goat, sheep, and pigs using a new computer-assisted method (CASMA-F). Theriogenology 79(3):436-442. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.10.015>.
- Viquez, L; Barquero, V; Soler, C; Roldan, ERS; Valverde, A. 2020. Kinematic Sub-Populations in Bull Spermatozoa: A Comparison of Classical and Bayesian Approaches (en línea). Biology 9(6):138. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology9060138>.
- Wientjes, JGM; Soede, NM; Knol, EF; van den Brand, H; Kemp, B. 2013. Piglet birth weight and litter uniformity: Effects of weaning-to-pregnancy interval and body condition changes in sows of different parities and crossbred lines. Journal of Animal Science 91(5):2099-2107. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5659>.
- Winters, RA; Hamilton, DN; Bhatnagar, AS; Fitzgerald, R; Bovin, N; Miller, DJ. 2018. Porcine sperm binding to oviduct cells and glycans as supplements to

- traditional laboratory semen analysis. *Journal of Animal Science* 96(12):5265-5275. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/sky372>.
- Wysokińska, A; Kondracki, S. 2019. Heterosis for morphometric characteristics of sperm cells from Duroc x Pietrain crossbred boars. *Animal Reproduction Science* 211. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106217>.
- Xu, X; Pommier, S; Arbov, T; Hatchings, B; Sotto, W; Foxcroft, GR. 1998. In Vitro Maturation and Fertilization Techniques for Assessment of Semen Quality and Boar Fertility. *Journal of Animal Science* . DOI: <https://doi.org/10.2527/1998.76123079x>.
- Yang, K; Jeon, J; Kwon, K; Choi, H; Kim, J; Lee, J. 2019. Effect of different parities on reproductive performance, birth intervals, and tail behavior in sows. *Journal of Animal Science and Technology* 61(3):147-153. DOI: <https://doi.org/10.5187/jast.2019.61.3.147>.
- Yániz, J; Capistrós, S; Vicente-Fiel, S; Hidalgo, C; Santolaria, P. 2016. A comparative study of the morphometry of sperm head components in cattle, sheep, and pigs with a computer-assisted fluorescence method. *Asian Journal of Andrology* 18(6):840-843. DOI: <https://doi.org/10.4103/1008-682X.186877>.
- Yániz, JL; Palacín, I; Caycho, KS; Soler, C; Silvestre, MA; Santolaria, P. 2018. Determining the relationship between bull sperm kinematic subpopulations and fluorescence groups using an integrated sperm quality analysis technique (en línea). s.l., CSIRO, vol.30. p. 919-923 DOI: <https://doi.org/10.1071/RD17441>.
- Yániz, JL; Soler, C; Santolaria, P. 2015. Computer assisted sperm morphometry in mammals: A review. s.l., Elsevier, vol.156. p. 1-12 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.03.002>.
- Zasiadczyk, L; Fraser, L; Kordan, W; Wasilewska, K. 2015. Individual and seasonal variations in the quality of fractionated boar ejaculates. *Theriogenology* . DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.01.015>.

8. ANEXOS

ANEXO 1

ASSESSMENT OF FERTILITY TRAITS RELATED WITH KINEMATICS SUBPOPULATIONS OF BOAR SPERMATOZOA¹

Vinicio Barquero², Eduardo R.S. Roldan³, Carles Soler^{4,5}, Bernardo Vargas-Leiton⁶, Luis Víquez², Anthony Valverde⁷, ✉

¹ Este trabajo formó parte de la tesis de Licenciatura en Agronomía del primer autor, desarrollada en el Laboratorio de Andrología de la Escuela de Agronomía, Campus Tecnológico Local San Carlos, del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), Costa Rica.

² Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), Escuela de Agronomía. Campus Tecnológico Local San Carlos. vinicio1196@gmail.com.

³ Departamento de Biodiversidad y Biología Evolutiva, Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC) Madrid, España.

⁴ Universidad de Valencia, Departamento de Biología Celular, Biología Funcional y Antropología Física, Campus Burjassot, C/Dr Moliner, 50, 46100, Burjassot, España.

⁵ Proiser R+D, Av. Catedrático Agustín Escardino, 9, Edificio 3 (CUE), Planta 1, 46980 Paterna, España.

⁶ Programa de Investigación en Medicina de Población, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Costa Rica, Heredia 40104, Costa Rica.

⁷ Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), Escuela de Agronomía, Centro de Investigación y Desarrollo en Agricultura Sostenible del Trópico Húmedo, Laboratorio de Andrología, Campus Tecnológico Local San Carlos. Apdo. Postal 223-21002 Alajuela, Costa Rica. ✉ anvalverde@tec.ac.cr (autor para correspondencia).

Enviado a *Animal Reproduction Science*

ANEXO 2

RELEVANCE OF HEAD MORPHOMETRY SUB-POPULATIONS OF BOAR SPERMATOZOA AND FERTILITY¹

Vinicio Barquero², Eduardo R.S. Roldan³, Carles Soler^{4,5}, Anthony Valverde⁶, ✉

¹ Este trabajo formó parte de la tesis de Licenciatura en Agronomía del primer autor, desarrollada en el Laboratorio de Andrología de la Escuela de Agronomía, Campus Tecnológico Local San Carlos, del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), Costa Rica.

² Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), Escuela de Agronomía. Campus Tecnológico Local San Carlos. vinicio1196@gmail.com

³ Departamento de Biodiversidad y Biología Evolutiva, Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC) Madrid, España.

⁴ Universidad de Valencia, Departamento de Biología Celular, Biología Funcional y Antropología Física, Campus Burjassot, C/Dr Moliner, 50, 46100, Burjassot, España.

⁵ Proiser R+D, Av. Catedrático Agustín Escardino, 9, Edificio 3 (CUE), Planta 1, 46980 Paterna, España.

⁶ Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), Escuela de Agronomía, Centro de Investigación y Desarrollo en Agricultura Sostenible del Trópico Húmedo, Laboratorio de Andrología, Campus Tecnológico Local San Carlos. Apdo. Postal 223-21002 Alajuela, Costa Rica. ✉ anvalverde@tec.ac.cr (autor para correspondencia).

Enviado a *Theriogenology*